



Avaliação do desempenho do camarão *Litopenaeus vannamei* e das macroalgas *Gracilaria birdiae* e *Ulva fasciata* num sistema de cultivo multitrófico integrado

Diogo Manuel Trindade Raposo

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Zootécnica – Produção Animal

Orientador: Doutora Eliane Marinho Soriano

Co-orientador: Doutor Fernando Ribeiro Alves Afonso

Júri:

Presidente:

- Doutora Maria Teresa Marques Ferreira da Cunha Cardoso, Professora Associada com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais:

- Doutora Luísa Almeida Lima Falcão e Cunha, Professora Associada com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;
- Doutora Eliane Marinho Soriano, Professora Associada da Universidade Federal do Rio Grande do Norte;
- Doutora Maria Leonor Martins Braz de Almeida Nunes, Investigadora Principal do Instituto Português do Mar e da Atmosfera;
- Doutor Fernando Ribeiro Alves Afonso, Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

À Minha Mãe e
Ao Meu Pai.

Agradecimentos

À Professora Doutora Eliane Marinho Soriano, pela grande importância que tem no meu percurso, no meu crescimento, no meu conhecimento, no meu sucesso.
Pela preocupação, proteção e cuidado nesta aventura.

Ao Amigo Sérgio Oliveira, pela amizade, pelo conhecimento, pela ajuda incansável.

Ao Professor Doutor Marcos Rogério Câmara, pelo conhecimento, pela disponibilidade, pelas conversas que ajudaram a fortalecer ideias e rumos.

Aos Colegas do Laboratório de Macroalgas, pela amizade, pela dedicação e pela ajuda constantes.

Ao Professor Doutor Fernando Afonso, pelo apoio fundamental do outro lado do Atlântico.

Ao Meu Pai, pelo apoio incondicional nas decisões do meu caminho.

À Família e aos Amigos, pela sua presença.

Muito obrigado!

Resumo

A aquacultura encontra-se em grande crescimento e afirma-se como a resposta ao aumento da procura por produtos de origem aquática. Este crescimento exige práticas sustentáveis. Tirando partido das funções complementares dos organismos no ecossistema, a tecnologia de biorremediação Aquacultura Multitrófica Integrada propõe-se a equilibrar as abundâncias de organismos, de modo a evitar a instabilidade causada pela introdução massiva de espécies alimentadas artificialmente. Neste trabalho, desenvolvido no Estado do Rio Grande do Norte (Brasil), camarões juvenis *Litopenaeus vannamei* (peso inicial de 2,78 g \pm 0,29) e macroalgas foram co-cultivados em tanques exteriores (100 L), durante quatro semanas. Três tratamentos foram avaliados: monocultivo de camarão, co-cultivo com *Gracilaria birdiae* e co-cultivo com *Ulva fasciata* (coUF). Todos os grupos experimentais foram alimentados com alimento *pelletizado* comercial, sendo a quantidade diária 5% da biomassa animal. Os organismos incorporados no sistema foram beneficiados mutuamente. As duas macroalgas utilizaram os nutrientes azotados residuais da produção animal no seu desenvolvimento, removendo 95% do nitrito e do nitrato. A qualidade do meio de cultivo melhorou e a carga de nutrientes nos efluentes diminuiu. Os desempenhos zootécnicos foram superiores no coUF. A *Ulva* fresca complementou a alimentação dos animais e melhorou em 40% a sua taxa de crescimento específico.

Palavras-chave: Aquacultura Multitrófica Integrada, Co-cultivo, *Litopenaeus vannamei*, *Gracilaria birdiae*, *Ulva fasciata*, Biorremediação.

Abstract

The aquaculture is growing fast, responding to the increase of aquatic products demand. This growth requires sustainable practices. Taking advantages from the complementary functions of the organisms in the ecosystem, the bioremediation technology Integrated Multitrophic Aquaculture proposes to balance the abundance of organisms, avoiding the instability caused by the massive introduction of fed aquaculture. In this study, developed in the Rio Grande do Norte State (Brazil), juvenile shrimps *Litopenaeus vannamei* (2,78 g \pm 0,29 initial weight) and seaweeds were co-cultured in exterior tanks (100 L), during four weeks. Three treatments were evaluated: shrimp monoculture, co-culture with *Gracilaria birdiae* e co-culture with *Ulva fasciata* (coUF). All experimental groups were fed with a commercial pellet, at a daily ration of 5% shrimp biomass. The organisms incorporated in the system were benefited mutually. The two seaweeds used the residual nitrogen nutrients of the animal production for their growth, removing 95% of nitrite and nitrate. The water quality improved and the nutrients in the effluents decreased. The zootecnic performance was superior in coUF. The fresh *Ulva* complemented the animal nutrition and improved the specific growth rate in 40%.

Keywords: Integrated Multitrophic Aquaculture, Co-culture, *Litopenaeus vannamei*, *Gracilaria birdiae*, *Ulva fasciata*, Bioremediation.

Extended Abstract

The aquaculture is growing fast. Globally, it grows 7,8% per year, its production quantity doubled between 2000 and 2010 and, actually, represents 45% of the market products. The exhaustion of the fishery resources and the increasing of aquatic products demand, in the recent years, are promoting this growth. Shrimp is the most value commodity of the fishery and aquaculture products, and the specie *Litopenaeus vannamei* is the most produced globally.

The current aquaculture, which is dominated by high trophic level species and shrimps - representing more than 50% of the production quantity -, is not an alternative to fisheries, because it appropriates from long ecological areas to support its production. It needs large inputs (feed and good quality water) and produces large outputs (residues). So, it is consensual that the fast growth of aquaculture is associated with negatives environmental impacts and it needs sustainable practices. Only 25% of the nutrients input are used by the feed species. So, the residues management is a crucial issue in fed aquaculture. For many aquaculture operations, monoculture is, spatially and managerially, often the norm.

Taking advantages from the complementary functions of the organisms in the ecosystem, the bioremediation technology Integrated Multitrophic Aquaculture (IMTA) proposes to balance the abundance of organisms, avoiding the instability caused by the massive introduction of fed aquaculture. It combines, in the appropriate proportion, the cultivation of fed aquaculture species and extractive aquaculture species (e. g. seaweeds). The wastes of fed animals are suitable nutritional resources for the seaweeds, which convert the residual nutrients in commercial valuable products. The efficiency, productivity and profitability of the farm are improved. This management concept has been proposed for the mitigation of environmental effects, economic diversification and social acceptability. The integrated culture of shrimp and seaweeds has been successfully implemented with bioremediation and nutritional purposes.

In this study, developed in the Oceanography and Limnology Department of the Federal University of Rio Grande do Norte (Brazil), the performances of juvenile shrimps *Litopenaeus vannamei* and native seaweeds *Gracilaria birdiae* and *Ulva fasciata* were evaluated, in an IMTA experimental system. The organisms were cultured in nine outdoor tanks (100 L) filled with filtered seawater and with constant air supply, during four weeks. A tenth tank, only with water, served as control. Three treatments – in triplicate – were tested: shrimp monoculture (mono), co-culture with *Gracilaria birdiae* (coGB) and co-culture with

Ulva fasciata (coUF). Five shrimps ($2,78 \text{ g} \pm 0,29$ initial weight) were introduced in each experimental unit, and 100 g of seaweeds in each co-culture. All experimental groups were fed with a commercial pellet (35% crude protein, 10% crude fat), at a daily ration of 5% shrimp biomass. Dissolved oxygen concentration, temperature, pH, salinity, nutrients dissolved (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- and PO_4^{3-}) and shrimp and seaweed biomass were measured weekly.

The average temperatures, dissolved oxygen concentration, salinity and pH were $25,34 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,92$, $4,25 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,58$, $38,90 \text{ psu} \pm 1,81$ and $8,12 \pm 0,17$, respectively. By the photosynthesis process, it's expected that seaweeds use carbon dioxide and release oxygen to the cultivation environment. Although the differences are not significant, the treatments coGB and coUF (co-cultures) showed higher dissolved oxygen concentrations, and a positive correlation between the *Ulva* biomass and the oxygen concentration was observed ($r_s=0,601$, $P=0,039$). In the other hand, the carbon dioxide has an indirect effect in the pH value. The pH value showed significant differences ($P=0,001$), being higher in co-cultures by the presence of seaweeds. The two seaweeds used the residual nitrogen nutrients of the animal production. The co-cultures showed significantly lower concentrations of nitrite and nitrate ($P<0,001$). Although the seaweeds use dissolved inorganic nitrogen (preferentially, ammonia) and phosphorus in their metabolic processes, no significant differences between the treatments were observed in ammonia and orthophosphate concentrations.

The shrimp zootechnical parameters showed significantly higher in the treatment coUF ($P<0,01$). Additionally, cuts on *Ulva* structures, green colour of the faeces and the digestive tract from coUF shrimps and negative correlation between the *Ulva* biomass and the coUF shrimps biomass ($r_s=-0,608$, $P=0,036$) suggested the ingestion of *Ulva fasciata* by the shrimps. This co-culture improved the specific growth rate in 40% and allowed the saving of 1 gram of feed per gram of weight gain, comparing with mono. Other experimental shrimp/seaweeds co-cultures demonstrated the palatability of fresh green seaweeds. According to the literature, the shrimp growth seems not affected by the environmental parameters measured. The survival was 100% in all treatments.

The *Gracilaria birdiae* grew constantly over the four weeks, showing a $1,13 \text{ \% d}^{-1} \pm 0,12$ specific growth rate. Better growth of the *G. birdiae* can be expected, with higher nitrogen concentrations. In the other hand, the *Ulva fasciata* didn't show a significant growth, with wide variation of its biomass, justified by its consumption.

The two seaweeds significantly removed the nitrite (NO_2^-) and nitrate (NO_3^-) from the water ($P<0,001$). The concentrations of those two nutrients were always lower in co-cultures

($0,005 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,006 \text{ NO}_2^-$ and $0,044 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,055 \text{ NO}_3^-$), comparing with mono ($0,031 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,031$ and $0,633 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,996$, respectively). High removal efficiencies were observed - 95% for the two species and for the two nutrients. No significant removal was observed for ammonia and orthophosphate concentrations ($0,163 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,200$ and $0,035 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,025$, respectively). This could be related with low concentration of residual nutrients and mineralization processes occurring. However, a significant negative correlation between the *Gracilaria* biomass and the ammonia concentration was observed ($r_s=-0,760$, $P=0,004$). High biofiltration capacity is reported for different *Gracilaria* and *Ulva* species, which are frequently evaluated as biofilters for aquaculture effluents.

The present study observed mutual benefits between the organisms incorporated. The two seaweeds used the residual nutrients from animal production - the dissolved inorganic nitrogen - for their growth, increasing the quality of the cultivation environment and decreasing the quantity of nutrients in the effluents. Furthermore, the seaweed *Ulva fasciata* complemented the shrimp nutrition.

Keywords: Integrated Multitrophic Aquaculture, Co-culture, *Litopenaeus vannamei*, *Gracilaria birdiae*, *Ulva fasciata*, Bioremediation.

Índice Geral

	Pág.
I. Introdução	1
1.1 Aquacultura Mundial	1
1.2 Cultivo Mundial de Camarão Marinho	3
1.3 Cultivos Multitróficos Integrados	5
1.4 Objetivos.....	5
II. Revisão Bibliográfica	6
2.1 Impactos Ambientais da Aquacultura Atual	6
2.2 Maneio e Redução dos Resíduos da Maricultura	7
2.2.1 Tecnologias de Biorremediação	8
2.2.2 Aquacultura Multitrófica Integrada	9
2.2.3 Viabilidade da Incorporação do Cultivo de Macroalgas	12
2.2.4 Cultivo Integrado de Camarão Marinho e Macroalga.....	13
III. Metodologia	19
3.1 Camarões	19
3.2 Macroalgas	20
3.3 Procedimento Experimental	20
3.4 Análises Experimentais.....	23
3.4.1 Parâmetros Ambientais	23
3.4.1.1 Amónia Total (NH_4^+ e NH_3)	24
3.4.1.2 Nitrito (NO_3^-).....	24
3.4.1.3 Nitrato (NO_2^-)	24
3.4.1.4 Azoto Inorgânico Dissolvido (NID)	25

3.4.1.5 Ortofosfato (PO_4^{3-})	25
3.4.2 Parâmetros zootécnicos	25
3.4.3 Parâmetros ficotécnicos	27
3.5 Capacidade de Biofiltração das Macroalgas	28
3.6 Análises Estatísticas	28
IV. Resultados	30
4.1 Parâmetros Ambientais.....	30
4.2 Parâmetros Zootécnicos	31
4.3 Parâmetros Ficotécnicos.....	34
4.4 Capacidade de Biofiltração das Macroalgas	36
4.5 Correlações	38
V. Discussão	40
5.1 Parâmetros Ambientais.....	40
5.2 Parâmetros Zootécnicos	41
5.3 Parâmetros Ficotécnicos.....	44
5.4 Capacidade de Biofiltração das Macroalgas	45
VI. Conclusão	47
Referências Bibliográficas	49
Anexos	58

Índice de Tabelas

Pág.

Tabela 1 - Parâmetros abióticos (temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade, amônia total, nitrito, nitrato, azoto inorgânico dissolvido e fósforo inorgânico dissolvido) da água introduzida inicialmente, em todas as unidades experimentais. 21

Tabela 2 - Composição do alimento artificial *pelletizado* fornecido (produto Aquavita Premium 35 da empresa Guaraves Alimentos) durante o trabalho experimental. 22

Tabela 3 - Valores médios (\pm DP), mínimos e máximos para temperatura, pH, O₂ dissolvido e salinidade nos diferentes tratamentos controlo, mono, coGB e coUF, ao longo do trabalho experimental (n=50). 30

Tabela 4 - Valores médios (\pm DP), mínimos e máximos para amônia total (NH₄⁺ e NH₃), nitrito (NO₂⁻), nitrato (NO₃⁻), azoto inorgânico dissolvido (NID = nitrito + nitrato + amônia total) e fósforo inorgânico dissolvido (PO₄³⁻) nos diferentes tratamentos controlo, mono, coGB e coUF, ao longo do trabalho experimental (n=50). 31

Tabela 5 - Valores médios (\pm DP), mínimos e máximos para peso inicial (PIc), peso final (PFc), taxa de crescimento específico (TCEc), ganho de peso (GPc), índice de conversão alimentar para a alimentação artificial (IC) e sobrevivência (Sobrev) dos camarões, pertencentes aos diferentes tratamentos mono, coGB e coUF (n=45). 32

Tabela 6 - Valores médios (\pm DP), mínimos e máximos para comprimento inicial (CI), comprimento final (CF), taxa de alongamento específico (TAE) e ganho de comprimento (GC) dos camarões, pertencentes aos diferentes tratamentos mono, coGB e coUF (n=45). 33

Tabela 7 - Valores para peso inicial (PI_m), peso final (PF_m), taxa de crescimento específico (TCE_m) e ganho de peso (GP_m) das macroalgas *G. birdiae* e *U. fasciata* (n=6). 34

Índice de Figuras

	Pág.
Figura 1 – Variação da quantidade (em toneladas; traço contínuo) e do valor (em dólares americanos - USD; tracejado) da produção mundial em aquacultura, entre os anos de 2000 e 2010 (fonte: FAO, 2012).	2
Figura 2 – Variação do valor da unidade de produção mundial em aquacultura (em dólares americanos – USD - por tonelada), entre os anos de 2000 e 2010 (fonte: FAO, 2012).	2
Figura 3 – Distribuição da produção de biomassa pelos quatro grupos de organismos aquáticos, peixes, moluscos, crustáceos e plantas, ao nível global e de cada continente, em 2010 (fonte: FAO, 2012).	3
Figura 4 – Variação da quantidade (em toneladas; traço contínuo) e do valor (em dólares americanos - USD; tracejado) da produção mundial em aquacultura de <i>Litopenaeus vannamei</i> , entre os anos de 2000 e 2010 (fonte: FAO, 2012).	4
Figura 5 – Variação do valor da unidade de produção mundial em aquacultura de <i>Litopenaeus vannamei</i> (em dólares americanos – USD - por tonelada), entre os anos de 2000 e 2010 (fonte: FAO, 2012).	4
Figura 6 – Abordagem ecossistémica do conceito de aquacultura multitrófica integrada. Os nutrientes residuais de um cultivo (organismos alimentados artificialmente) são capturados e convertidos em biomassa por outros dois cultivos com valor comercial (organismos extractivistas), enquanto é promovida a sua biorremediação. A energia solar e os <i>inputs</i> atmosféricos e terrestres são considerados. A biomassa e as funções ecológicas das espécies alimentadas artificialmente e das extractivistas, naturalmente presentes no ecossistema onde as explorações aquícolas estão sediadas, devem ser previstas (adaptado de Chopin <i>et al.</i> , 2008).	10
Figura 7 – <i>Gracilaria birdiae</i>	15
Figura 8 – <i>Ulva fasciata</i>	16
Figura 9 – Viveiro de cultivo situado na área de manguezal do estuário do Rio Potengi (Estado do Rio Grande do Norte – Brasil), local onde foram pescados os animais do trabalho experimental.	19

Figura 10 – Praia de Mãe Luíza (5°48'4"S, 35°10'48"W), situada no município de Natal (Estado do Rio Grande no Norte, Brasil), local onde foram apanhadas as macroalgas <i>Gracilaria birdiae</i> e <i>Ulva fasciata</i> do trabalho experimental.	20
Figura 11 – Disposição dos tanques, onde se realizou o trabalho experimental (DOL-UFRN).	21
Figura 12 – Representação dos co-cultivos de <i>Litopenaeus vannamei</i> com <i>Gracilaria birdiae</i> (coGB; A) e com <i>Ulva fasciata</i> (coUF; B).....	22
Figura 13 – Ambiente nos co-cultivos de <i>Litopenaeus vannamei</i> com <i>Gracilaria birdiae</i> (coGB; A) e com <i>Ulva fasciata</i> (coUF; B).....	23
Figura 14 – Medição dos parâmetros físico-químicos (oxigênio dissolvido, temperatura, pH e salinidade), com o auxílio do medidor multiparâmetro HI 9828 da HANNAinstruments.	24
Figura 15 – Medição do comprimento dos animais, com o auxílio de um paquímetro.....	26
Figura 16 – Variação da biomassa animal (g) dos tratamentos mono (traço contínuo), coGB (tracejado) e coUF (pontuado), ao longo do período experimental.	33
Figura 17 – Variação da taxa de crescimento específico (% d ⁻¹) dos tratamentos mono (traço contínuo), coGB (tracejado) e coUF (pontuado), ao longo do período experimental.	34
Figura 18 – Variação da biomassa das macroalgas (g) <i>Gracilaria birdiae</i> (tracejado) e <i>Ulva fasciata</i> (pontuado), ao longo do período experimental.	35
Figura 19 – Variação da taxa de crescimento específico (% d ⁻¹) da macroalgas <i>Gracilaria birdiae</i> (tracejado) e <i>Ulva fasciata</i> (pontuado), ao longo do período experimental.	35
Figura 20 – Variação das concentrações de nitrito (mg L ⁻¹) no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.	36
Figura 21 – Variação das concentrações de nitrato (mg L ⁻¹) no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.	36
Figura 22 – Variação das concentrações de amónia total (mg L ⁻¹) no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.	37
Figura 23 – Variação das concentrações de azoto inorgânico dissolvido (mg L ⁻¹ ; NID) no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.....	37

Figura 24 – Variação das concentrações de fósforo inorgânico dissolvido (mg L^{-1} ; PID) no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental..... 38

Figura 25 – Exemplares de *Gracilaria birdiae* (A) e *Ulva fasciata* (B), no final do trabalho experimental. São visíveis os cortes, provocados pelas mordidas dos camarões, nas estruturas da *Ulva*..... 42

Lista de Abreviaturas

CF – Comprimento final dos camarões (cm)

CI – Comprimento inicial dos camarões (cm)

CO₂ – Dióxido de carbono

coGB – Tratamento experimental de co-cultivo de camarão e macroalga *Gracilaria birdiae*

coUF – Tratamento experimental de co-cultivo de camarão e macroalga *Ulva fasciata*

DOL-UFRN – Departamento de Oceanografia e Limnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte

DP – Desvio-padrão

EA – Eficiência de absorção de nutrientes

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (Food And Agriculture Organization Of The United Nations)

G. birdiae – *Gracilaria birdiae*

GC – Ganho de comprimento dos camarões (%)

GPc – Ganho de peso dos camarões (%)

GPm – Ganho de peso das macroalgas (%)

IC – Índice de conversão alimentar dos camarões para a alimentação artificial

IMTA – Aquacultura Multitrófica Integrada (Integrated Multitrophic Aquaculture)

mono – Tratamento experimental de monocultivo de camarão

NH₄⁺ – Concentração de Amónia

NH₄⁺ e NH₃ – Concentração de Amónia Total

NID – Concentração de Azoto Inorgânico Dissolvido

NO₂⁻ – Concentração de Nitrito

NO₃⁻ – Concentração de Nitrato

O₂ - Oxigénio

O₂D – Concentração de Oxigénio Dissolvido

P – *P-value*

PFc – Peso final dos camarões (g)

PFm – Peso final das macroalgas (g)

PIc – Peso inicial dos camarões (g)

PID – Concentração de Fósforo Inorgânico Dissolvido

PIIm – Peso inicial das macroalgas (g)

PO₄³⁻ – Concentração de fósforo inorgânico dissolvido, pela concentração de ortofosfato

Sobrev – Sobrevivência (%)

TAE – Taxa de alongamento específico dos camarões (% d⁻¹)

TCEc – Taxa de crescimento específico dos camarões (% d⁻¹)

TCEm – Taxa de crescimento específico das macroalgas (% d⁻¹)

U. fasciata – *Ulva fasciata*

USD – Dólares dos Estados Unidos da América (United States Dollars)

I. Introdução

1.1 Aquacultura Mundial

A comunidade global enfrenta, atualmente, vários desafios, entre os quais os impactos da atual crise financeira e económica, as vulnerabilidades expostas pelas alterações e eventos climáticos extremos. Ao mesmo tempo, têm de ser satisfeitas as necessidades alimentares e nutricionais de uma população em crescimento, dispondo de recursos naturais finitos. A pesca e a aquacultura contribuem, de forma crucial, para o bem-estar e a prosperidade mundiais, uma vez que os organismos aquáticos são uma importante fonte de alimentos nutritivos e de proteína animal, representando 16,6% do consumo mundial desse tipo de proteína. Adicionalmente, o sector dá sustento e receita, direta ou indiretamente, a uma significativa parte da população mundial (Food And Agriculture Organization Of The United Nations [FAO], 2012).

Os produtos da pesca e da aquacultura estão entre as mercadorias alimentares mais comercializadas mundialmente, com 168 milhões de toneladas colocadas no mercado (valor total superior a 220 mil milhões de dólares americanos) em 2010. Dados preliminares da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (Food And Agriculture Organization Of The United Nations – FAO) preveem, para 2011, novos máximos nos seus volumes e nos seus valores monetários. O crescimento contínuo da produção e as melhorias nos canais de distribuição contribuíram para o crescimento do fornecimento de produtos da pesca e da aquacultura nas últimas cinco décadas, com um aumento médio de 3,2% ao ano no período de 1961-2009, ultrapassando o crescimento anual de 1,7% da população humana mundial. O consumo mundial *per capita* também aumentou de 9,9 quilogramas (kg) anuais em 1960 para 18,4 kg em 2009. Para a próxima década, prevê-se que a produção total em captura e aquacultura exceda as produções bovina, suína e avícola (FAO, 2012).

Atualmente, a aquacultura fornece mais de 45% dos produtos de origem aquática presentes no mercado. Enquanto as capturas piscatórias se têm mantido estáveis (em cerca de 90 milhões de toneladas anuais), a produção aquícola tem crescido continuamente, em termos de volume e em termos monetários (figura 1). A aquacultura cresceu, em média, 7,8% ao ano na primeira década do novo século, duplicando o seu volume de produção entre 2000 e 2010. Este é um dos sectores de produção de alimentos de origem animal em maior crescimento. Das 78,9 milhões de toneladas produzidas em 2010, 92% pertence à produção asiática e 62% à chinesa. A unidade de produção em aquacultura é cada vez mais valorizada, crescendo 30% entre 2005 e 2010 (figura 2). Especificamente, a aquacultura

brasileira cresceu, em média e em volume, 13% ao ano nesta primeira década (FAO, 2012). Adicionalmente, o Governo Brasileiro anunciou, em Outubro de 2012 pela sua Presidente Dilma Roussef e pelo seu Ministro Marcelo Crivella, o Plano Safra, o qual prevê um investimento de 4,1 bilhões de reais na pesca e na aquacultura, a fim de serem alcançadas, em 2014, as 2 milhões de toneladas de produção anual, ou seja o crescimento de 58% em quatro anos (Ministério da Pesca e da Aquicultura do Governo Federal Brasileiro, 2012).

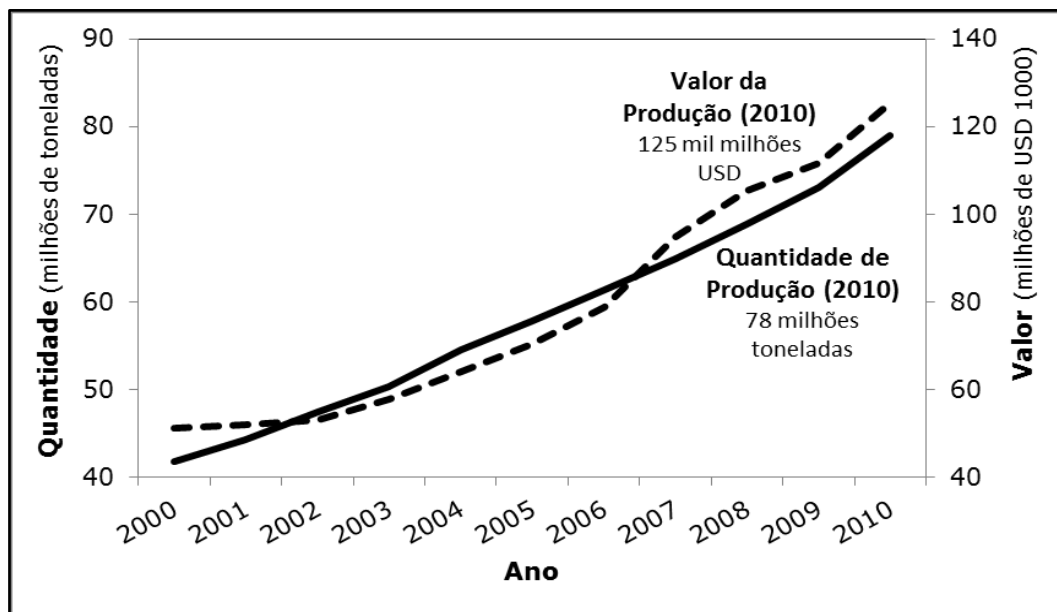


Figura 1 – Variação da quantidade (em toneladas; traço contínuo) e do valor (em dólares americanos - USD; tracejado) da produção mundial em aquacultura, entre os anos de 2000 e 2010 (fonte: FAO, 2012).

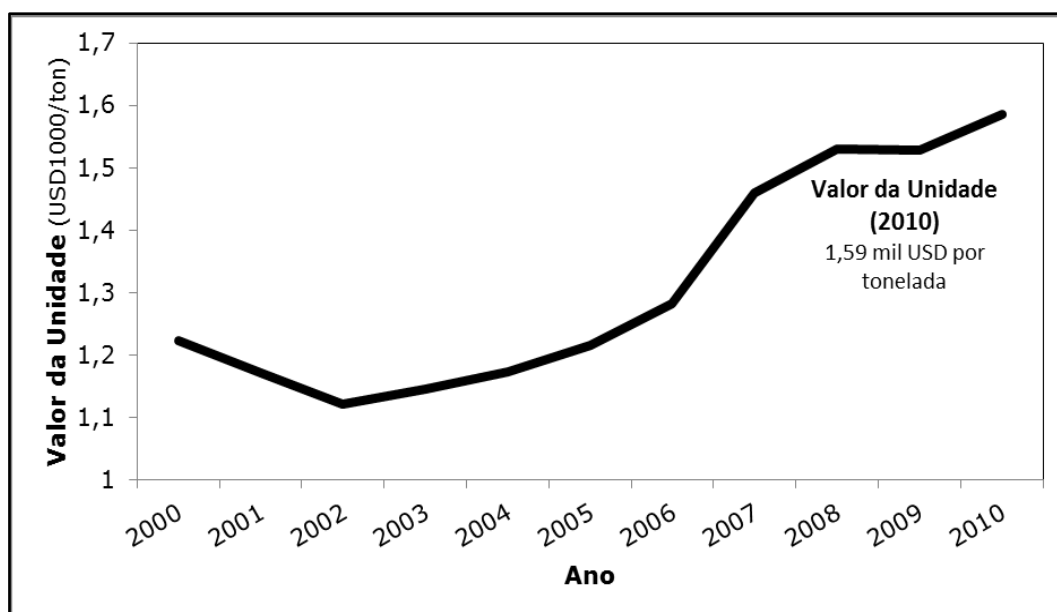


Figura 2 – Variação do valor da unidade de produção mundial em aquacultura (em dólares americanos – USD - por tonelada), entre os anos de 2000 e 2010 (fonte: FAO, 2012).

Atualmente, a aquacultura mundial é dominada, em termos de volume de produção, por espécies de níveis tróficos superiores, sendo o grupo peixes a deter 50% da biomassa produzida. Por outro lado, as plantas representam, em todos os continentes, menos de 25% do volume de produção (figura 3), sendo produzidas em apenas 31 países. A distribuição da produção de biomassa dos vários grupos de organismos é ecologicamente desequilibrada. A aquacultura alimentada artificialmente (e.g. peixes e crustáceos) e a aquacultura extractivista (e.g. moluscos e plantas) encontram-se, frequentemente, separadas geograficamente, sendo predominantes as práticas aquícolas monoespecíficas (FAO, 2012).

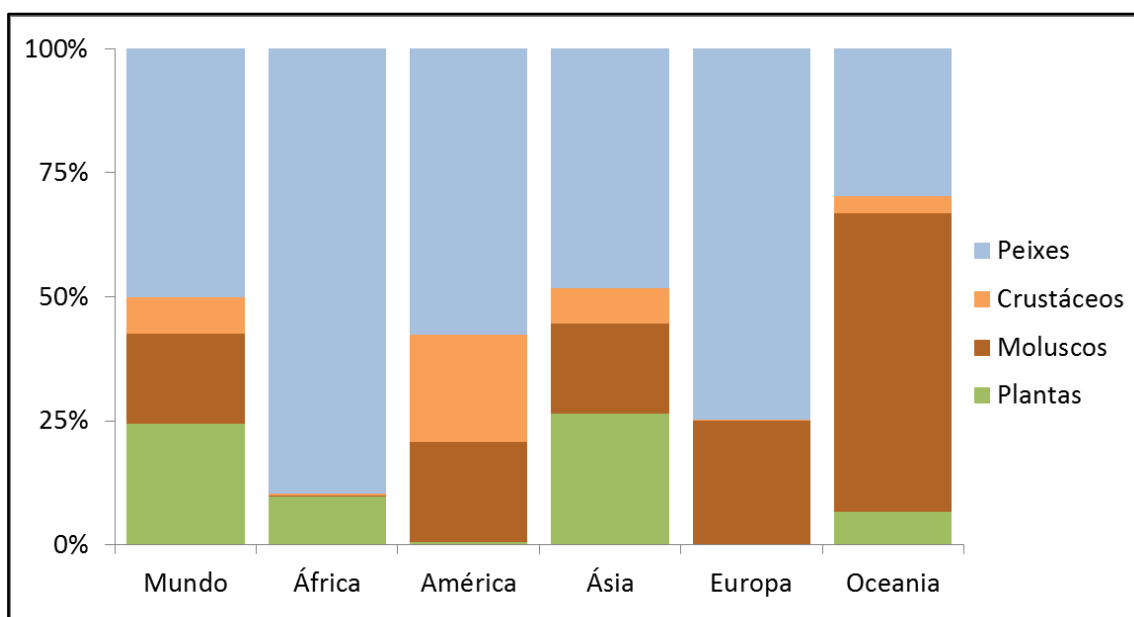


Figura 3 – Distribuição da produção de biomassa pelos quatro grupos de organismos aquáticos, peixes, moluscos, crustáceos e plantas, ao nível global e de cada continente, em 2010 (fonte: FAO, 2012).

1.2 Cultivo Mundial de Camarão Marinho

Em termos monetários, o camarão é a mercadoria mais valorizada entre os produtos da pesca e da aquacultura, representando, em 2010, 15% do valor total do seu comércio internacional. Dentro desse grupo, a espécie de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* apresenta-se como a mais produzida a nível global, chegando ao mercado mais de 2,5 milhões de toneladas em 2010, mais 12% do que em 2009. Com base neste volume de produção, esta é a espécie de crustáceo marinho com maior sucesso internacional na sua introdução para aquacultura. A produção de *L. vannamei* cresceu continuamente, em termos de volume e em termos monetários, durante a primeira década do séc. XXI (figura 4). Em 2010, a sua produção representou 71,8% da produção mundial de camarões marinhos. Dessa percentagem, 77,9% é produção asiática, sendo o restante produzido na América, região de onde é nativo. Em 2002 e 2003, coincidindo com a entrada da China no mercado

mundial desta espécie, foi observada uma queda brutal do valor da unidade de produção de *L. vannamei* em aquacultura (figura 5). O país iniciou o cultivo desta espécie em 2001 e tornou-se logo o maior produtor mundial, com cerca de 88 mil toneladas produzidas nesse ano. Especificamente, a carcinicultura brasileira desta espécie manteve-se relativamente constante de 2005 a 2010, com cerca de 66 mil toneladas produzidas anualmente (FAO, 2012).

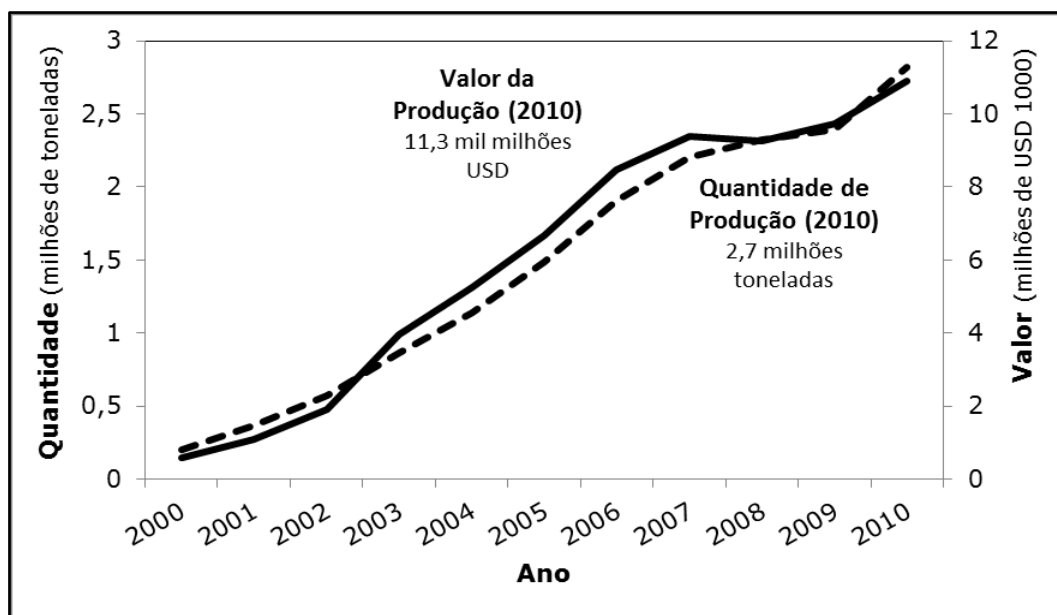


Figura 4 – Variação da quantidade (em toneladas; traço contínuo) e do valor (em dólares americanos - USD; tracejado) da produção mundial em aquacultura de *Litopenaeus vannamei*, entre os anos de 2000 e 2010 (fonte: FAO, 2012).

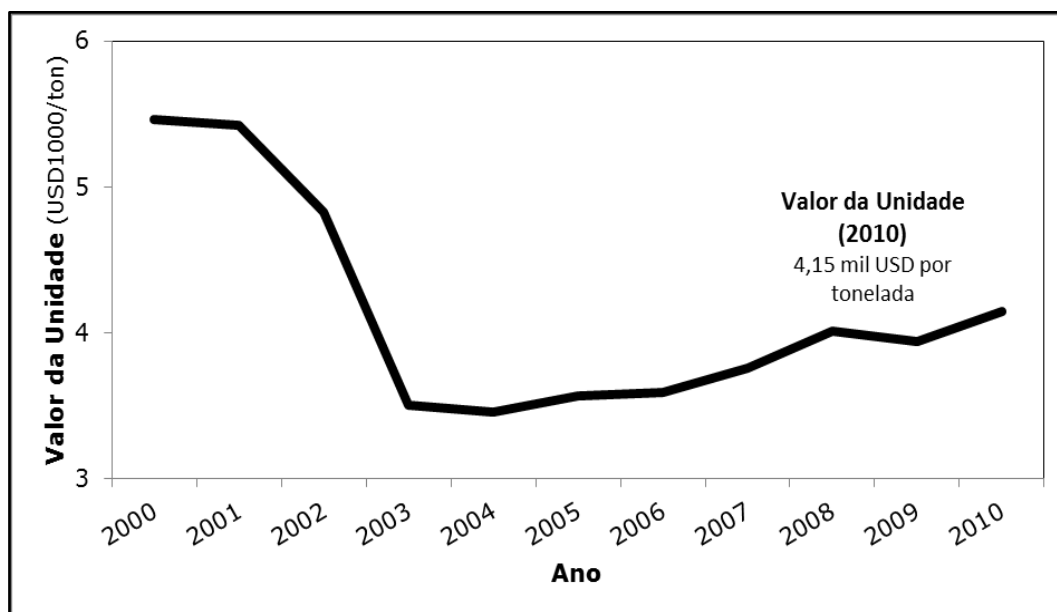


Figura 5 – Variação do valor da unidade de produção mundial em aquacultura de *Litopenaeus vannamei* (em dólares americanos – USD - por tonelada), entre os anos de 2000 e 2010 (fonte: FAO, 2012).

1.3 Cultivos Multitróficos Integrados

É consensual que o grande e rápido crescimento da produção aquícola e, especificamente, da aquacultura intensiva está associado a impactos ambientais negativos e necessita de práticas sustentáveis (Buschmann *et al.*, 2008; Chopin *et al.*, 2001; Neori *et al.*, 2004; Troell *et al.*, 2003). Apenas 25% dos nutrientes que entram nos sistemas intensivos são absorvidos pelas espécies alimentadas. Então, o manejo de resíduos é um ponto crucial na aquacultura alimentada artificialmente (Buschmann *et al.*, 2008). Em muitas operações aquícolas, a monocultura é, em termos de espaço e de manejo, frequentemente a norma. A tecnologia de biorremediação Aquacultura Multitrófica Integrada, com uma abordagem ecossistémica, combina nas proporções adequadas o cultivo de espécies alimentadas artificialmente e de espécies extractivistas (e. g. macroalgas). Os resíduos dos animais alimentados artificialmente são recursos para as macroalgas, as quais convertem os nutrientes residuais em produtos com valor comercial. Esta solução tem sido proposta para mitigação de efeitos ambientais, diversificação económica e aceitabilidade social (Chopin *et al.*, 2008). Os cultivos integrados de camarão e macroalgas têm sido implementados com sucesso, com fins de biorremediação e nutricionais (Cruz-Suarez *et al.*, 2010; Copertino *et al.*, 2009; Koi & Fotedar, 2011; Marinho-Soriano *et al.*, 2002; Marinho-Soriano *et al.*, 2009a; Marinho-Soriano *et al.*, 2009b; Nelson *et al.*, 2001; Tsutsui *et al.*, 2010).

1.4 Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo analisar os efeitos da aquacultura multitrófica integrada sobre o desempenho do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* e das macroalgas *Gracilaria birdiae* e *Ulva fasciata*. Adicionalmente, foram feitas as análises da qualidade da água e da capacidade de remoção de nutrientes do sistema pelas macroalgas. Os resultados obtidos podem determinar as vantagens desse sistema de cultivo, nomeadamente os benefícios zootécnicos, as melhores características do ambiente de cultivo e dos efluentes produzidos e a possibilidade de valorização económica dos dois produtos aquícolas, os camarões e as macroalgas.

II. Revisão Bibliográfica

2.1 Impactos Ambientais da Aquacultura Atual

Enquanto a procura global por produtos de origem aquática aumenta, grande parte das áreas de pesca já atingiram o seu potencial máximo para a captura desses organismos (FAO, 2012). A aquacultura poderá ser uma alternativa à pesca. Contudo, a aquacultura intensiva atual, dominada por espécies de elevados níveis tróficos – como os peixes carnívoros – e pelos camarões, não deve ser encarada como tal. É consensual que o grande e rápido crescimento da aquacultura intensiva origina impactos ambientais negativos. Essas atividades aquícolas apropriam-se de longas áreas ecológicas para sustentar a sua produção. Elas exigem grandes *inputs* de energia (necessidade de alimento artificial) e produzem grandes quantidades de resíduos (*outputs*), dependendo assim do ecossistema local (e.g. água de boa qualidade e capacidade de absorção de nutrientes) e dos ecossistemas externos (e.g. produção de alimento artificial; Chopin *et al.*, 2001).

A produção do seu alimento artificial utiliza fontes exógenas de nutrientes e depende ainda, fundamentalmente, da captura de recursos pesqueiros. Para diminuir o seu impacto no ecossistema, está a ser desenvolvida pesquisa em fontes alternativas de proteína e de gordura, a serem incorporadas nas formulações. As plantas terrestres e marinhas estão a ser as novas matérias-primas mais visadas (Chopin *et al.*, 2001).

Da totalidade dos nutrientes que são introduzidos no sistema, apenas 25-30% são aproveitados pelas espécies animais cultivadas. No caso da produção de camarão, essa percentagem é menor. Especificamente, mais de 60% do azoto introduzido através do alimento artificial dissolve-se por contacto com a água e fica disponível, de imediato, para os produtores primários. Esta perda de nutrientes deve-se às dificuldades de formular rações para organismos aquáticos. Os seus requisitos nutricionais ainda são desconhecidos, a contribuição nutricional do biota natural é grande e, com isto, a sobredosagem é frequente. A partícula de alimento também tem de ser, simultaneamente, estável e atrativa. Os animais exigem estímulos químicos que os levem a procurar o alimento e, quando este deixa de ser atrativo, não é consumido (Buschmann *et al.*, 2008). A eutrofização do ambiente origina alterações na produção de fitoplâncton, nos fluxos de energia e de nutrientes, na biomassa e na estrutura da comunidade pelágica e bentónica, nos *stocks* pesqueiros, na sedimentação, nos ciclos de nutrientes, na depleção de oxigénio e na supressão de algas bentónicas perenes por filamentosas (Folke *et al.*, 1998).

Os resíduos da aquacultura variam em quantidade e qualidade, dependendo principalmente das espécies cultivadas, do sistema de cultivo, da tecnologia usada, da qualidade do alimento e das práticas de manejo aplicadas nos viveiros. O excreta, incluindo as fezes e outros produtos de excreção, o alimento não consumido, os produtos químicos e os fármacos usados no controlo de patógenos correspondem à maior fração dos resíduos. Os organismos patogénicos e os fugitivos também devem ser incluídos. Os resíduos apresentam-se nas formas orgânica particulada e inorgânica dissolvida, e as consequências da sua introdução massiva no ambiente dependem da hidrodinâmica, das condições abióticas e a capacidade de carga do meio recetor natural. Os resíduos depositam-se no sedimento (fração particulada) ou dissolvem-se e fluem na coluna de água pelas correntes dominantes, alterando os fluxos de energia e de massa e modificando, assim, a capacidade de carga do sistema (Buschmann *et al.*, 2008).

Nos viveiros de cultivo de camarão, os nutrientes na coluna de água são rapidamente incorporados na biomassa fitoplantónica e, posteriormente, acumulada no sedimento. Dependendo da densidade animal e do manejo da água, cerca de 10% da amónia – principal forma azotada disponibilizada a partir do excreta dos animais – sai do viveiro, dissolvida no efluente (Troell *et al.*, 1999). Num sedimento sob condições de riqueza de matéria orgânica, a população microbiana aumenta e, conseqüentemente, o consumo de oxigénio na sua camada superior também, podendo-se esgotar completamente e resultando em sedimentos anóxicos. Esse processo de decomposição resulta na remineralização de nutrientes (azoto e fósforo), os quais intensificam a eutrofização do meio, e na emissão de compostos químicos ambientalmente indesejáveis, como o metano (CH₄) e o sulfeto de hidrogénio (H₂S). O aumento da concentração de sulfeto e a diminuição da concentração de oxigénio reduz significativamente a biodiversidade de invertebrados marinhos e, sob condições de anóxia, a amónia não sofre desnitrificação (Buschmann *et al.*, 2008).

2.2 Maneio e Redução dos Resíduos da Maricultura

A abordagem frequentemente seguida para o manejo dos resíduos da maricultura alimentada artificialmente está relacionada com a seleção do local de cultivo. A escolha do local é feita com base nas condições hidrodinâmicas e na logística das infraestruturas, a fim de otimizar o desempenho das espécies cultivadas. Adicionalmente, a fluidez de matéria e a conseqüente menor deposição dessa, conseguidas com a adequação do fluxo de água e da profundidade, previne a deterioração da qualidade da água e do sedimento próximo. Dentro desta abordagem, a aquacultura *offshore* é proposta como alternativa, evitando também os conflitos na região costeira, nomeadamente ambientais e de uso mútuo de recursos.

Movendo para *offshore*, a diluição aumenta e deve permitir uma adequada dispersão dos resíduos. Por outro lado, quando o local não oferece uma boa circulação de água, pode ser feita a instalação de sopradores submarinos para diluir dos resíduos. Nestas técnicas, os nutrientes residuais são apenas dispersados no ambiente, e não reduzidos, esperando-se que a sua diluição seja a solução (Buschmann *et al.*, 2008).

Os nutrientes residuais acumulados nas regiões costeiras são uma importante questão ambiental e, por essa razão, a redução da sua descarga deve ser o objetivo. Assim, diferentes acessórios de recolha, os quais são colocados sobre o sedimento dos viveiros, têm sido testados. O bombeamento dos sedimentos ricos em matéria orgânica, afetados pelas práticas aquícolas, também tem sido aplicado (Buschmann *et al.*, 2008). O investimento na melhoria da qualidade do alimento artificial também pode ser inserido nesta abordagem. O objetivo é melhorar a estabilidade da partícula de alimento e, conseqüentemente, minimizar a perda de nutrientes quando esse contacta com a água. As melhorias na qualidade do alimento artificial, na digestibilidade e na eficiência de conversão alimentar dos animais têm demonstrado efeitos positivos na redução das descargas de nutrientes residuais (Chopin *et al.*, 2001).

O tratamento dos efluentes que saem dos viveiros aquícolas é de extrema importância para a mitigação do impacto ambiental destas atividades. Assim, são realizados tratamentos químicos (filtros de carbono cativado, de troca de iões e precipitação química) ou tratamentos biológicos (Troell *et al.*, 2003).

2.2.1 Tecnologias de Biorremediação

Por definição, o ato de biorremediar consiste na utilização de agentes biológicos na remoção de contaminantes das águas ou dos solos contaminados (Zaidi & Imam, 2008). Por seu lado, a engenharia ecológica usa e recria processos ecológicos em sistemas naturais ou artificiais, a fim de atingir objetivos ambientais. Os seus objetivos abrangem a recuperação de danos e a prevenção de efeitos ambientais, tirando partido das capacidades de organismos para a remediação dos efluentes produzidos pelas práticas aquícolas. As tecnologias emergentes permitirão equilibrar as abundâncias de organismos com diferentes funções no ecossistema, evitando assim a instabilidade causada pela introdução massiva de espécies alimentadas artificialmente no ecossistema (Buschmann *et al.*, 2008).

Quando a biorremediação é aplicada, considerando sistemas sedeados em terra ou em águas abertas e sistemas fechados ou abertos, duas abordagens práticas têm sido seguidas: a dissimilação bacteriana em gases e a assimilação vegetal em biomassa. As

bactérias são biofiltradores dissimilativos pois, através de processos de oxidação e de redução, transformam os nutrientes em formas menos tóxicas. Especificamente, a amónia é convertida numa forma azotada menos tóxica – o nitrato – através da nitrificação. Os biofiltros bacterianos contribuem, de forma efetiva e significativa, para a recirculação da água de cultivo dos sistemas aquícolas. Contudo, este método não remove os nutrientes, e acumula grandes quantidades de nitrato e biomassa microbiana, os quais têm de ser, posteriormente, eliminados. Sob condições anaeróbias, outras bactérias transformam o nitrato em gás N_2 , que é então removido do sistema (Neori *et al.*, 2004; Troell *et al.*, 2003).

Por outro lado, a biorremediação realizada pelas plantas, como as algas, é assimilativa. Com energia solar e presença de nutrientes (principalmente, carbono, azoto e fósforo), estes organismos fotossintetizam nova biomassa, recriando as interações ecológicas naturais. Para além de equilibrarem as concentrações de nutrientes, as plantas também equilibram os valores de concentração de oxigénio, de dióxido de carbono e de pH. Várias espécies de microalgas são usadas como filtros biológicos, as quais também se podem desenvolver nos viveiros dos animais e, posteriormente, ser consumidas num sistema de cultivo integrado com animais filtradores (*e.g.* bivalves). Contudo, as populações de microalgas são difíceis de controlar em viveiros abertos e com trocas de água limitadas e, por outro lado, muitas trocas podem acabar com a população. Assim, a biorremediação promovida pela integração das macroalgas no sistema apresenta-se, eventualmente, como a alternativa mais viável e atrativa, em termos produtivos e económicos (Neori *et al.*, 2004; Troell *et al.*, 2003).

2.2.2 Aquacultura Multitrófica Integrada

A tecnologia de biorremediação de Aquacultura Multitrófica Integrada (Integrated Multitrophic Aquaculture – IMTA), com uma abordagem ecossistémica, ambiciona recriar os processos naturais, combinando, nas proporções adequadas, organismos de vários níveis tróficos. Com a integração do cultivo de espécies de aquacultura alimentada artificialmente (*e. g.* peixes e camarões) e do cultivo de espécies de aquacultura extractivista orgânica (*e. g.* bivalves) e de aquacultura extractivista inorgânica (*e. g.* macroalgas), é feito um maneio equilibrado do ecossistema pela promoção da reciclagem dos nutrientes residuais. Os resíduos de um cultivo de animais alimentados artificialmente – o alimento não consumido e o excreta – são recursos nutricionais para os outros cultivos (animais e plantas extractivistas). Esses nutrientes residuais, que se consideram perdidos na aquacultura alimentada artificialmente, são capturados, absorvidos e convertidos em produtos com valor comercial, enquanto a sua biorremediação é promovida. Desta forma, todos os

componentes da unidade produtiva têm um valor económico, assim como um papel nos processos de recirculação do sistema (figura 6; Chopin *et al.*, 2008).

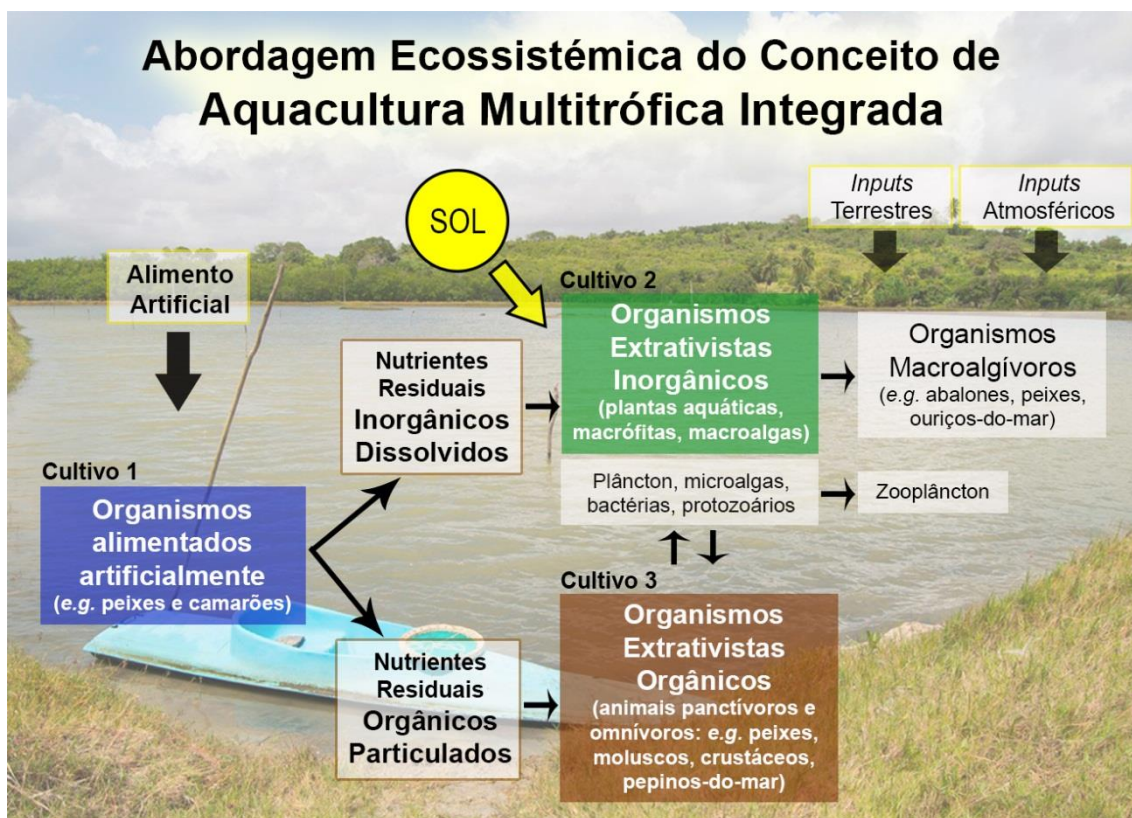


Figura 6 – Abordagem ecosistémica do conceito de aquacultura multitrofica integrada. Os nutrientes residuais de um cultivo (organismos alimentados artificialmente) são capturados e convertidos em biomassa por outros dois cultivos com valor comercial (organismos extrativistas), enquanto é promovida a sua biorremediação. A energia solar e os *inputs* atmosféricos e terrestres são considerados. A biomassa e as funções ecológicas das espécies alimentadas artificialmente e das extrativistas, naturalmente presentes no ecossistema onde as explorações aquícolas estão sediadas, devem ser previstas (adaptado de Chopin *et al.*, 2008).

O sistema de IMTA é um policultivo que tem como premissa a integração de espécies de vários níveis tróficos, as quais desempenham funções biológicas complementares no ecossistema. Quando espécies do mesmo nível trófico, as quais partilham processos químicos e biológicos semelhantes, são cultivadas em conjunto, o seu impacto ambiental é potencializado, e não mitigado (Chopin *et al.*, 2008). Assim, a escolha dos organismos incorporados é de extrema importância para o desenvolvimento do sistema, devendo-se basear nas suas funções no ecossistema e, ademais, em espécies nativas com potencial produtivo e valor económico (Chopin, *et al.*, 2001). Os modelos atuais de IMTA têm por objetivo fornecer uma ferramenta que preveja a biomassa ideal em cada nível trófico, a fim de maximizar a utilização dos recursos, minimizar os impactos ambientais e originar um rendimento económico efetivo. Eles agrupam os organismos em categorias tróficas (peixes, filtradores, detritívoros e produção primária) e consideram a influência dos

fluxos biogeoquímicos naturais, ao longo do tempo, nos percursos nutricionais entre os grupos do sistema (Ren *et al.*, 2012).

As espécies extractivistas valorizam os nutrientes residuais gerados pela aquacultura alimentada artificialmente, os quais devem ser considerados como perdas financeiras, e ainda os transformam em biomassa economicamente valorizável, gerando a diversificação económica da exploração. Enquanto a rentabilidade global é elevada, o risco económico também diminui. Além disso, com a adoção desta abordagem, a aquacultura aumenta a sua aceitabilidade social. Embora seja difícil atribuir um valor monetário a essa variável, a aprovação pública é imperativa para o sector desenvolver todo o seu potencial. Assim, o IMTA é proposto como uma solução sustentável, em termos ambientais, económicos e sociais, apontando para a mitigação dos efeitos ambientais, para a diversificação económica e para a aceitabilidade social e objetivando o aumento da rentabilidade por unidade produtiva a longo prazo (Chopin *et al.*, 2008).

O atual modelo de empresa aquícola não considera nem reconhece o valor económico dos serviços de biorremediação prestados pelos biofiltreadores, e a nutrificação do meio ambiente ainda envolve poucos custos monetários para os produtores. Os custos ambientais do monocultivo devem ser internalizados. O estabelecimento de incentivos regulamentares e financeiros poderá, assim, promover o reconhecimento dos benefícios dos componentes extractivistas e a criação de planos adequados de biorremediação. De acordo com a FAO (2012), a quantidade de produtos da pesca e da aquacultura no mercado terá de duplicar, a fim de satisfazer a crescente procura. De uma perspetiva ambiental, a produção de espécies alimentadas artificialmente poderá aumentar significativamente, quando equilibrada com cultivos extractivistas. Para isto, estes dois tipos de aquacultura deverão aproximar-se geograficamente (Neori *et al.*, 2007).

O IMTA não é um novo conceito. Este sistema é praticado nos países asiáticos, há vários séculos, através da experimentação por tentativa erro. Por seu lado, os países ocidentais iniciaram as suas pesquisas científicas em métodos integrados de tratamento de resíduos, com origem nos sistemas maricultura, nos anos setenta. Depois desse período, o interesse científico estagnou e emergiu novamente na década de 1990, quando os trabalhos indicaram a sobrecarga do ecossistema por parte dos monocultivos de peixe e de camarão (Chopin *et al.*, 2008; Primavera, 1993; Rajendran & Kathiresan, 1997). A pesquisa aborda a solução para a nutrificação, não pela sua diluição, mas sim pela conversão baseada numa perspetiva ecossistémica (Chopin *et al.*, 2008).

2.2.3 Viabilidade da Incorporação do Cultivo de Macroalgas

As macroalgas são organismos autotróficos, os quais usam a luz solar para extrair nutrientes inorgânicos dissolvidos do meio e produzir biomassa. Por esta razão, as macroalgas são elementos fundamentais para o manejo e para o equilíbrio do ecossistema. A exploração sustentável dos recursos marinhos, como a aquacultura de peixes e camarões, terá de ser balanceada com a produção de biomassa dessas plantas (Pereira & Yarish, 2008).

A integração do cultivo de macroalgas nos sistemas intensivos de maricultura, sejam em águas abertas ou sediados em terra, oferece uma opção viável e atrativa para extração rentável dos nutrientes residuais da maricultura em produtos de valor, sendo que os trabalhos experimentais apontam os nutrientes residuais disponibilizados pelas espécies alimentadas artificialmente como adequados para o desenvolvimento desses organismos. O efluente biofiltrado pelas macroalgas, limpo de nutrientes (principalmente, carbono, azoto e fósforo) e rico em oxigénio, pode então ser recirculado para os viveiros dos organismos aquáticos ou descarregado no meio recetor natural. O crescimento e o desempenho das macroalgas são afetados pela espécie de animal cultivada, pelo desenho do cultivo, pelas práticas de alimentação e pelos parâmetros específicos do local de produção. Os dados indicam que as plantas têm capacidade para remover até 100% do azoto inorgânico dissolvido disponibilizado (Chopin *et al.*, 2001; Neori *et al.*, 2004; Troell *et al.*, 2003).

Sendo a luz solar o fator primário para a viabilidade de um sistema de cultivo integrado baseado na biorremediação por macroalgas, também deve ser dada particular importância a outros fatores físico-químicos (como a temperatura, a quantidade de nutrientes e o movimento da água) e biológicos (Chopin *et al.*, 2001). A escolha da espécie de macroalga a incorporar no sistema integrado deve respeitar certos critérios: boa taxa de crescimento e elevada concentração de azoto no tecido; facilidade de cultivo e controlo do seu ciclo de vida; resistência a epífitas e a doenças; e adequação das características ecofisiológicas ao ambiente de cultivo. Adicionalmente, para evitar os danos ecológicos causados pela introdução de espécies exóticas, as espécies deverão ser nativas. O sistema ideal incorpora espécies com valor comercial e capacidade de biorremediação (Neori *et al.*, 2004).

A produção vegetal aumenta em qualidade e em quantidade, quando os indivíduos se desenvolvem com os nutrientes residuais da produção animal aquícola (Abreu *et al.*, 2009; Chopin *et al.*, 1999; Neori *et al.*, 1991; Troell *et al.*, 1997). A quantidade e a qualidade do ágar, composto bioquímico importante na valorização económica de certas espécies de

macroalgas, também se têm mostrado superiores quando o cultivo é em efluentes (Martinez & Buschmann, 1996).

Os géneros de macroalgas mais visados pelos trabalhos de cultivo integrado são *Ulva* e *Gracilaria* (Neori *et al.*, 2004; Yokohama & Ishihi, 2010). Apesar de serem, muitas vezes, consideradas epífitas em monocultivos de outras espécies de macroalgas, as *Ulva* spp. têm mostrado elevadas taxas de crescimento assim como de conteúdo de azoto, fazendo delas boas candidatas a espécie remediadora. Os seus ciclos de vida são geralmente bem conhecidos, e a sua integração em sistemas de maricultura de média e larga escala têm sido bem-sucedidos. Possivelmente, a única desvantagem é a sua limitada valorização económica. Por seu lado, as *Gracilaria* spp. apresentam, geralmente, taxas de crescimento mais baixas relativamente ao género anterior. Contudo, registam-se boas remoções de nutrientes e armazenamento desses por um maior período de tempo. Também têm maior valorização económica dos indivíduos, uma vez que são importantes produtoras de compostos bioquímicos (Neori *et al.*, 2004).

Na opinião dos principais investigadores da área, o que tem atrasado a implementação comercial dos sistemas de cultivo integrado não são as considerações comerciais ou a falta de conhecimento técnico-científico, mas sim a resistência à mudança e a lenta implementação legislativa do princípio de poluidor-pagador (Neori *et al.*, 2004).

2.2.4 Cultivo Integrado de Camarão Marinho e Macroalga

Os resultados dos trabalhos experimentais realizados demonstram a potencialidade do uso das macroalgas em sistemas integrados de aquacultura de camarão. Este cultivo integrado tem sido aplicado, principalmente, com o objetivo de valorizar os nutrientes residuais disponibilizados pela produção animal (Copertino *et al.*, 2009; Koi & Fotedar, 2011; Marinho-Soriano *et al.*, 2002; Marinho-Soriano *et al.*, 2009a; Marinho-Soriano *et al.*, 2009b; Nelson *et al.*, 2001; Xu *et al.*, 2008a; Xu *et al.*, 2008b). Quando são cultivadas nos efluentes de carcinicultura, é observado maior desenvolvimento das macroalgas, relativamente ao cultivo em apenas água marinha (Chirapart & Lewmanomont, 2004). Com isto, a recirculação do meio de cultivo é viável, a descarga dos seus efluentes nas regiões costeiras é feita sem impactos no meio recetor natural e, em co-cultivo, é mantida a qualidade do ambiente de cultivo. Os resíduos da carcinicultura marinha demonstram ser adequados para o desenvolvimento das macroalgas, uma vez que são observados bons crescimentos e remoções eficientes dos nutrientes inorgânicos dissolvidos. Para além dessas menores concentrações de nutrientes observadas, os cultivos integrados afetam também outras variáveis ambientais, nomeadamente o pH, o oxigénio dissolvido, a turbidez

e a concentração de fitoplâncton, melhorando e estabilizando a qualidade do meio de cultivo (Copertino *et al.*, 2009; Koi & Fotedar, 2011; Xu *et al.*, 2008a; Xu *et al.*, 2008b). Os géneros taxonómicos *Gracilaria* e *Ulva* têm sido os mais estudados nestes trabalhos.

Esta integração também tem sido feita com objetivos nutricionais, demonstrando também ser vantajosa (Cruz-Suarez *et al.*, 2010; Porchas-Cornejo *et al.*, 1999; Portillo-Clark *et al.*, 2012; Tsutsui *et al.*, 2010). Sendo 60% dos custos da produção animal geralmente implicados à alimentação artificial, os trabalhos objetivam a substituição de parte da dieta por biomassa vegetal fresca produzida em co-cultivo com os animais. Estes estudos que seguem a abordagem nutricional, os quais têm visado o grupo das macroalgas verdes (Chlorophyta; *Caulerpa sertularioides*, *Chaetomorpha ligustica* e *Ulva clathrata*), registaram crescimentos significativamente superiores dos animais com biomassa vegetal fresca disponível, demonstrando assim a sua boa palatibilidade. Cruz-Suarez *et al.* (2010) estimularam o consumo da macroalga *Ulva clathrata*, onde a redução do fornecimento de alimento artificial e, conseqüente, consumo da *Ulva* originou uma melhoria de 60% na taxa de crescimento específico e alterações na carcaça dos animais, nomeadamente dos teores de lípidos e de carotenoides. Tsutsui *et al.* (2010) observaram consumo da macroalga *Chaetomorpha ligustica* por parte dos camarões, mesmo quando estavam saciados com alimento artificial, por análise do conteúdo clorofila no seu excreta.

O potencial produtivo e a valorização económica dos organismos do IMTA são essenciais para o sucesso do sistema (Chopin *et al.*, 2001). A produção mundial de camarão marinho é dominada, com 71,8 %, pela espécie *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Sendo nativa das águas tropicais da costa Este do Oceano Pacífico, esta espécie vive em habitats marinhos tropicais. Os indivíduos adultos vivem e desovam em mar aberto. O náuplio - primeiro estágio larvar - alimenta-se das suas reservas vitelinas. Por sua vez, os posteriores estágios larvares (zoea e mysis) são, respetivamente, herbívoros, alimentando-se de fitoplâncton, e carnívoros, alimentando-se de zooplâncton. As pós-larvas migram em direção à região costeira, onde passam a sua fase de vida juvenil em estuários, lagoas ou áreas de manguezal. Nesta fase, alteram os seus hábitos de vida - planctónicos para bentónicos - e os seus hábitos alimentares - para omnívoros, consumindo detritos e animais. Os machos atingem a maturidade às 20 g enquanto as fêmeas às 28 g, com cerca de 6-7 meses de idade. Normalmente em aquacultura, a fase larvar é feita em laboratórios especializados, enquanto o crescimento em viveiros. O camarão cultivado é despescado com diversos pesos, de acordo com as exigências do mercado, sendo normal com 15-25 g aos 4-5 meses (FAO, 2013). Para que a espécie tenha um bom desenvolvimento, a concentração de oxigénio deverá ser superior a 2,8 mg L⁻¹ (Diaz & Rosenberg, 1995), os

valores de pH próximos de 8 (Zhang *et al.*, 2006), a temperatura entre 25-35 °C e a salinidade entre 33-40 psu (Ponce-Palafox *et al.*, 1997).

O domínio desta espécie de camarão marinho, em termos de quantidades produzidas em aquacultura, deve-se aos seus bons desempenhos zootécnicos e à sua grande capacidade adaptativa a diferentes condições ambientais, principalmente de salinidade e de temperatura. A valorização económica deste produto aquícola é feita, fundamentalmente, para consumo humano, sendo comercializado após congelação, com ou sem cefalotórax, com ou sem casca, eviscerado ou não. A mercadoria camarão é a mais valorizada dentro deste ramo de produtos aquáticos (FAO, 2012; FAO, 2013).



Figura 7 – *Gracilaria birdiae*.

Para além das premissas mencionadas anteriormente, o sistema IMTA também deve basear-se em espécies nativas (Chopin *et al.*, 2001). Os géneros de macroalgas *Gracilaria* e *Ulva* são dos mais visados pelos trabalhos de cultivo integrado, por razões produtivas e económicas (Neori *et al.*, 2004). A espécie *Gracilaria birdiae* (Palastino & E.C.Oliveira, 2002; figura 7), nativa e abundante na região costeira do Brasil, em especial no Estado do Rio Grande do Norte, é uma macroalga vermelha marinha (Rhodophyta) de morfologia carnuda (AlgaeBase, 2012a; Palastino & E.C.Oliveira, 2002). Por sua vez, a *Ulva fasciata* (Delile, 1813; figura 8), distribuída por todos os continentes, e particularmente pela região costeira do Brasil, é uma macroalga verde marinha (Chlorophyta) de morfologia plana (AlgaeBase, 2012b). Esta distribuição cosmopolita é justificada pelo fato das *Ulvas* serem organismos

oportunistas, ou seja capazes de uma rápida colonização e crescimento em condições ambientais favoráveis (Littler, 1980).



Figura 8 – *Ulva fasciata*.

A incorporação da biomassa vegetal, produzida nos cultivos integrados, no alimento artificial de organismos aquáticos é uma importante alternativa de valorização económica desses produtos pois, tendo em conta as características do IMTA, possibilita o fecho do ciclo da produção aquícola: a biomassa vegetal produzida a partir da valorização dos nutrientes residuais da produção animal é, assim, alimento para os animais aquáticos. Novas matérias-primas têm sido testadas, e as macroalgas marinhas são um dos grupos mais visados (Chopin *et al.*, 2001). As *Gracilaria* spp. têm demonstrado ser bons ingredientes a incorporar como base no alimento artificial de peixes (Valente *et al.*, 2006). Especificamente nos trabalhos experimentais com camarões marinhos, a *Gracilaria* também tem sido testada, com resultados também positivos (Briggs & Funge-Smith, 1996; Marinho-Soriano *et al.*, 2007; Peñaflorida & Golez, 1996). Teores proteicos de 13-23% na matéria seca (Briggs & Funge-Smith, 1996; Marinho-Soriano *et al.*, 2007; Msuya & Neori, 2002; Peñaflorida & Golez, 1996; Tacon *et al.*, 1990) contribuem, provavelmente, para esses resultados favoráveis. Por seu lado, as *Ulva* spp. também têm demonstrado ser bons ingredientes a incorporar como base ou como suplementação no alimento artificial de organismos aquáticos (Cruz-Suárez *et al.*, 2009; Mustafa *et al.*, 1995; Nakagawa *et al.*, 1993; Valente *et al.*, 2006). Teores proteicos superiores a 20% na matéria seca (Cruz-Suárez *et al.*, 2010;

Khoi & Fotedar, 2011; Neori *et al.*, 2000; Ventura & Castañón, 1998) contribuem também, provavelmente, para esses resultados favoráveis. Especificamente, foram determinados teores proteicos de 13-16% em indivíduos de *Ulva fasciata* no Brasil (Pádua *et al.*, 2004). Os benefícios da incorporação das macroalgas na dieta de camarões marinhos, para a sua sobrevivência e para o seu desenvolvimento, têm sido atribuídos aos seus conteúdos vitamínico e mineral, à mobilização lipídica e às melhorias nas eficiências de absorção (Cruz-Suárez *et al.*, 2008).

Os humanos usam as macroalgas há milénios, como alimento próprio, como alimento para os seus animais domésticos ou como fertilizante e melhorador da qualidade do solo. Mais recentemente, as macroalgas têm-se afirmado como importantes fontes de compostos bioquímicos, como os ficocolóides, sendo importantes nos ramos alimentar, farmacêutico, industrial e biotecnológico. Tradicionalmente, as macroalgas são apanhadas nos bancos naturais. Contudo, a quantidade desses recursos tem vindo a decrescer pela apanha excessiva, então as técnicas de cultivo têm vindo a desenvolver-se (Pereira & Yarish, 2008).

O cultivo de macroalgas, com cerca de 19 milhões de toneladas produzidas em 2010, corresponde a 23% do volume de produção da aquacultura mundial. Esse valor, o qual aumentou 7,4% ao ano no novo século, é comparável ao crescimento da produção aquícola. A produção mundial de 2010 foi dominada pelo *kelp* japonês (*Laminaria japonica*), macroalgas *Eucheuma* (uma mistura de *Kappaphycus alvarezii* e *Eucheuma* spp.), *Gracilaria* spp., *nori* (*Porphyra* spp.) e *wakame* (*Undaria pinnatifida*), sendo 99,6% dela praticada na Ásia. Especificamente, as espécies do género *Gracilaria* são o quarto grupo de macroalgas mais produzido mundialmente, com cerca de 1,7 milhões de toneladas em 2010 (99% na Ásia), tendo crescido em volume de produção 145% ao ano no novo século (FAO, 2012).

As *Gracilarias* são chamadas de agarófitas, uma vez que são boas produtoras de ágar. O ágar é um hidrocolóide extraído das algas marinhas vermelhas (Rodophyta), o qual ocorre como hidrato de carbono estrutural nas suas paredes celulares. Este produto é amplamente utilizado na indústria alimentar, na indústria farmacêutica e na biotecnologia, as quais tiram partido das suas propriedades (temperaturas de fusão e gelificação bem definidas, gel termorreversível, baixa viscosidade em solução, alto poder gelificante, alta transparência, elevada força do gel a baixas concentrações e inibição da liquefação que ocorre por ação enzimática dos microrganismos). Sendo que as espécies deste género apresentam bons crescimentos e bons rendimentos de ágar, ele é, atualmente, o mais utilizado na indústria deste ficocolóide (Armisen, 1995; FAO, 2003). Não existem trabalhos

publicados que caracterizem o conteúdo do ficocolóide na espécie *G. birdiae*. Contudo, são observados rendimentos de ágar muito bons (20-36%) nas espécies deste género (Marinho-Soriano, 2001; Marinho-Soriano & Bourret, 2003; Marinho-Soriano & Bourret, 2005; Martinez & Buschmann, 1996). Outra espécie deste género, a *Gracilaria changgi*, foi avaliada como ingrediente alternativo para a alimentação humana, demonstrando ter bom valor nutricional (fonte de β -caroteno, minerais, fibra e ácidos gordos ómega-3; Norziah & Ching, 2000).

Por sua vez, a valorização das espécies do género *Ulva* tem sido testada em diversas áreas, como a alimentação de organismos aquáticos e de ruminantes, a alimentação humana e os fertilizantes agrícolas. Ventura & Castañón (1998) determinou que a *Ulva lactuca* origina uma forragem de qualidade nutricional média com alto teor proteico, para caprinos. A mesma espécie também mostrou ser favorável para a alimentação humana, por ter bons conteúdos de cinzas, proteína e fibra dietética (Ortiz *et al.*, 2006). O género apresentou resultados favoráveis como fertilizante agrícola (Oyieke, 1986; Sridhar & Rengasamy, 2011; Sridhar & Rengasamy, 2012).

III. Metodologia

3.1 Camarões

Camarões juvenis de *Litopenaeus vannamei* foram pescados numa carcinicultura, situada na área de manguezal do estuário do Rio Potengi (Estado do Rio Grande do Norte – Brasil; figura 9). O viveiro de cultivo, com área de um hectare, havia sido povoado há um mês, com densidade de sete (7) camarões por metro quadrado (m^2), os quais estavam a ser alimentados com uma quantidade de alimento artificial equivalente a sete por cento (%) da sua biomassa. A salinidade do local de cultivo encontrava-se a 34 psu. Os animais foram transportados até ao Departamento de Oceanografia e Limnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (DOL-UFRN), local onde decorreu o trabalho, numa caixa isotérmica com suplementação de ar. Até ao início do trabalho, os camarões permaneceram durante 48 horas num tanque exterior de quinhentos litros, com suplementação de ar constante e alimentados com a ração comercial fornecida anteriormente no viveiro de cultivo e posteriormente no trabalho experimental.



Figura 9 – Viveiro de cultivo situado na área de manguezal do estuário do Rio Potengi (Estado do Rio Grande do Norte – Brasil), local onde foram pescados os animais do trabalho experimental.

3.2 Macroalgas

As macroalgas utilizadas no trabalho experimental (*Gracilaria birdiae* e *Ulva fasciata*) foram apanhadas na Praia de Mãe Luíza (5°48'4"S, 35°10'48"W; figura 10), situada no município de Natal (Estado do Rio Grande no Norte, Brasil). O material biológico foi transportado para o laboratório em caixas isotérmicas, onde foi realizada a triagem para retirada de sedimento e epífitas. Em seguida as algas foram colocadas em tanques exteriores (300 L) com água do mar filtrada e suplementação de ar constante até o início do trabalho experimental.



Figura 10 – Praia de Mãe Luíza (5°48'4"S, 35°10'48"W), situada no município de Natal (Estado do Rio Grande no Norte, Brasil), local onde foram apanhadas as macroalgas *Gracilaria birdiae* e *Ulva fasciata* do trabalho experimental.

3.3 Procedimento Experimental

O sistema experimental foi composto por uma série de dez tanques de 150 litros (100 litros operacionais, 30 centímetros de lâmina de água e 0,75 m² de área da base) localizados no exterior (figura 11). Os tanques foram abastecidos com água do mar filtrada obtida através de bombeamento (Oceano Atlântico) e suplementados constantemente com ar. A água foi armazenada num tanque com capacidade de 300 L, onde permanecia por pelo menos 24 horas para que a temperatura fosse semelhante à das unidades experimentais. Os parâmetros abióticos da água inicialmente introduzida nos volumes de

cultivo são apresentados na tabela 1. O trabalho experimental decorreu durante quatro semanas. A matéria orgânica depositada foi sifonada diariamente e 30% do volume total foi renovado semanalmente.



Figura 11 – Disposição dos tanques, onde se realizou o trabalho experimental (DOL-UFRN).

Tabela 1

Parâmetros abióticos (temperatura, pH, oxigénio dissolvido, salinidade, amónia total, nitrito, nitrato, azoto inorgânico dissolvido e fósforo inorgânico dissolvido) da água introduzida inicialmente, em todas as unidades experimentais.

Temp (°C)	pH	O ₂ Dissolvido (mg/L)	Salinidade (psu)	NH ₄ ⁺ e NH ₃ (mg L ⁻¹)	NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹)	NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	NID (mg L ⁻¹)	PO ₄ ³⁻ (mg L ⁻¹)
27,13 ± 0,27	8,17 ± 0,18	5,10 ± 0,82	35,81 ± 0,06	0,010	0,016	0,128	0,154	0,044

Temp = Temperatura; NH₄⁺ e NH₃ = Amónia Total; NO₂⁻ = Nitrito; NO₃⁻ = Nitrato; NID = Azoto Inorgânico Dissolvido; PO₄³⁻ = Fósforo Inorgânico Dissolvido

Valores apresentados como *média ± DP* ou apenas um valor de análise.

Quarenta e cinco (45) camarões juvenis *L. vannamei*, com biomassa inicial de 2,78 g ± 0,29 (cerca de 13,9 g de biomassa animal por unidade de cultivo), foram distribuídos aleatoriamente por nove tanques, estando três em monocultivo de camarão (mono), três em co-cultivo de *Gracilaria birdiae* e camarão (coGB) e outros três em co-cultivo de *Ulva fasciata* e camarão (coUF; figura 12). Cada tanque foi povoado com 5 camarões, o que equivale a 14 animais por metro quadrado. Esta densidade corresponde atualmente a um tipo de produção semi-intensivo. Em cada unidade experimental de co-cultivo, também

foram introduzidos cem gramas (100 g) de macroalga (*Gracilaria birdiae* ou *Ulva fasciata*; figura 13). Um tanque, contendo apenas água do mar filtrada, foi usado como controle.

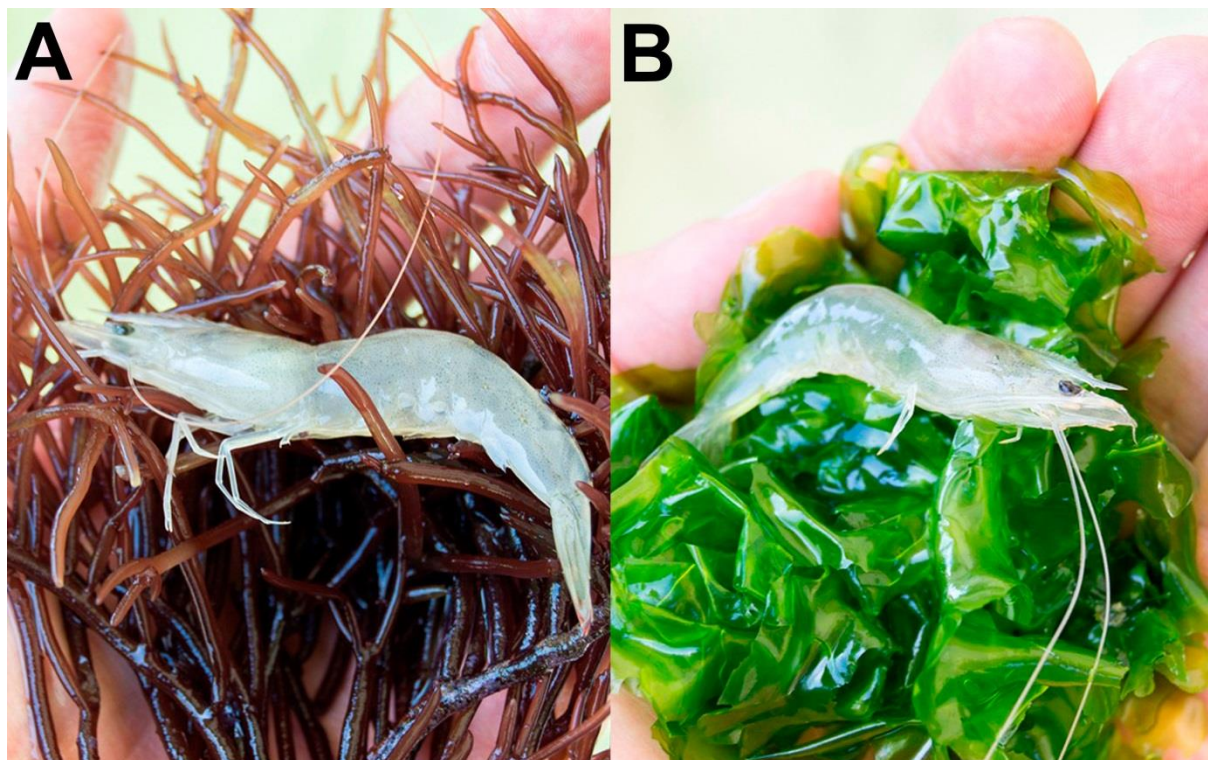


Figura 12 – Representação dos co-cultivos de *Litopenaeus vannamei* com *Gracilaria birdiae* (coGB; A) e com *Ulva fasciata* (coUF; B).

Em todos os cultivos, foi fornecida uma ração comercial *pelletizada*. A quantidade diária disponibilizada foi de 5% da biomassa dos camarões pertencentes a cada um dos tratamentos – inicialmente, 0,14 g diárias –, e essa foi monitorizada e recalculada semanalmente tendo como base as pesagens atualizadas. A alimentação, a qual foi feita a lanço e dividida por dois fornecimentos diários (às 9h00 e às 16h00), tinha as características nutricionais apresentadas na tabela 2.

Tabela 2

Composição do alimento artificial *pelletizado* fornecido (produto Aquavita Premium 35 da empresa Guaraves Alimentos) durante o trabalho experimental.

Humidade (%)	Proteína Bruta (%MS)	Gordura Bruta (%MS)	Fibra Bruta (%MS)	Cinza (%MS)	ENA (%MS)
12	35	10	5	13	37

%MS = Percentagem da Matéria Seca, ENA = Extrativos Não Azotados. Valores retirados da página *on-line* da empresa <www.guaraves.com.br>.

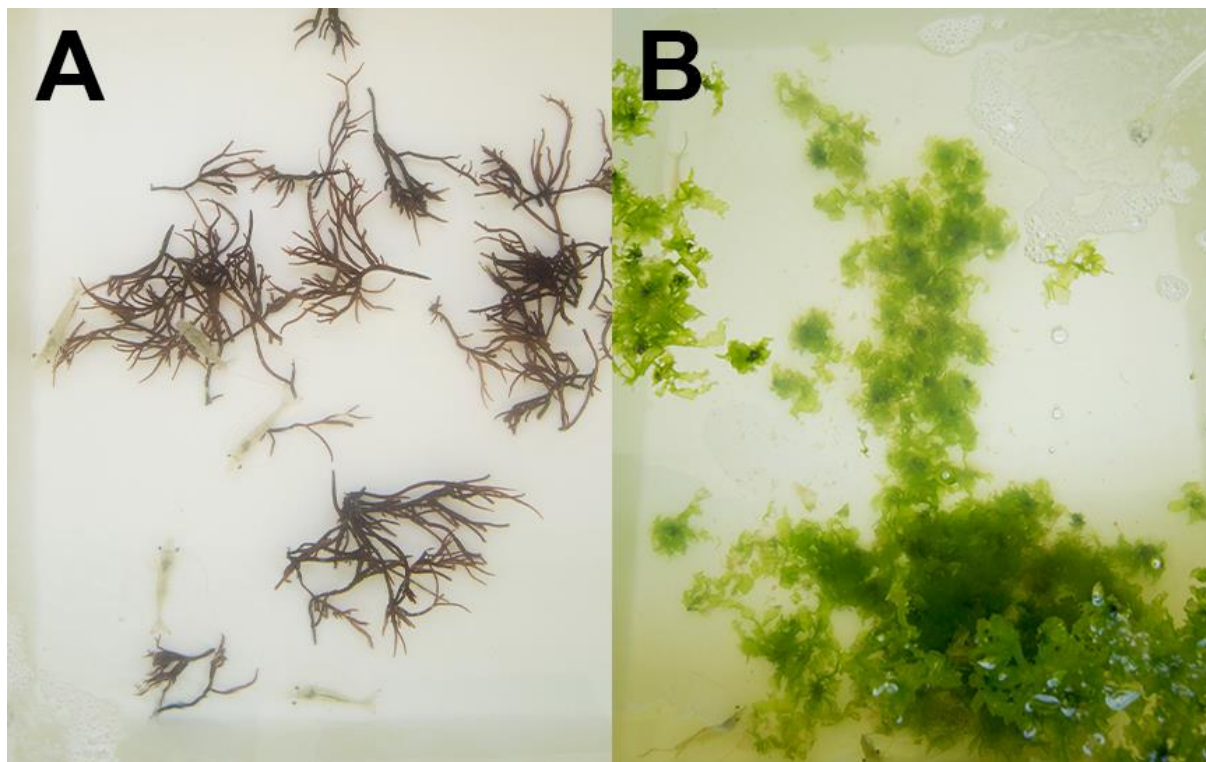


Figura 13 – Ambiente nos co-cultivos de *Litopenaeus vannamei* com *Gracilaria birdiae* (coGB; A) e com *Ulva fasciata* (coUF; B).

3.4 Análises Experimentais

3.4.1 Parâmetros Ambientais

De modo a avaliar a qualidade da água, os parâmetros ambientais foram monitorizados semanalmente. Os parâmetros físico-químicos, oxigénio dissolvido, temperatura, pH e salinidade, foram determinados com o medidor multiparâmetro HI 9828 da HANNAinstruments (figura 14). Para análise dos nutrientes – amónia total (NH_4^+ e NH_3), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) e fósforo inorgânico dissolvido (PO_4^{3-}) – amostras de água (100 ml) foram recolhidas semanalmente. A água foi filtrada com o auxílio de uma bomba de vácuo, utilizando uma membrana de fibra de vidro (GFC-Whatman). Em seguida, as amostras foram refrigeradas, para posterior análise de acordo com Strickland & Parsons (1972), como descrito posteriormente. As análises de nutrientes foram realizadas nos equipamentos do Laboratório de Macroalgas do DOL-UFRN.

A determinação das concentrações de nutrientes nas águas de cultivo foi antecedida pela construção de curvas de calibração. No espectrofotómetro, foram analisadas sete soluções padrão dos vários nutrientes com diferentes concentrações, e desenhada uma reta de regressão linear orientada pelos valores de absorvância obtidos. Posteriormente, com base nas leituras das águas de cultivo, para cada um dos nutrientes, e nas equações das

retas respectivas, foram determinados os valores de concentração. Esses valores de análise caíram dentro da curva de calibração, ou seja entre as concentrações padrão mínima e máxima.



Figura 14 – Medição dos parâmetros físico-químicos (oxigênio dissolvido, temperatura, pH e salinidade), com o auxílio do medidor multiparâmetro HI 9828 da HANNAinstruments.

3.4.1.1 Amônia Total (NH_4^+ e NH_3)

A determinação da amônia total foi feita após a reação da mesma com fenol e hipoclorito de sódio, obtendo-se uma solução de cor azul. Esta reação é catalisada pelo nitroprussiato de sódio. A absorvância resultante é proporcional à amônia presente e foi medida a 630 nm, no espectrofotômetro de duplo feixe Shimadzu UV-1800.

3.4.1.2 Nitrito (NO_3^-)

As concentrações de nitrito foram determinadas pela adição de 0,1 mL de amina aromática e 0,1 mL de sulfanilamida, a 5 mL da amostra. As leituras foram realizadas no comprimento de onda de 530 nm, no espectrofotômetro de duplo feixe Shimadzu UV-1800.

3.4.1.3 Nitrato (NO_2^-)

As concentrações de nitrato nas águas de cultivo foram determinadas, tendo como base o método proposto por Hernández-Lopez & Vargas-Albores (2003). Neste método, é feita a redução do nitrato para nitrito com cádmio cuperizado e tamponando com uma solução de cloreto de amônio concentrada (NH_4Cl). A determinação foi realizada de acordo

com os procedimentos descritos para o nitrito. A esses valores obtidos, foram-lhe subtraídas as concentrações de nitrito, a fim de representar apenas o nitrato.

3.4.1.4 Azoto Inorgânico Dissolvido (NID)

Esta variável diz respeito à soma das concentrações de nitrito, nitrato e amónia total, tendo como componentes os resultados obtidos nas análises descritas anteriormente.

3.4.1.5 Ortofosfato (PO_4^{3-})

A concentração de fósforo inorgânico dissolvido, pela concentração de ortofosfato, foi determinada através da adição de 0,1 mL de ácido ascórbico e 0,1 mL de reagente misto (composto por antimónio de potássio e molibdato de amónia), a 5 mL de amostra. As amostras foram homogeneizadas e o complexo fosfato-molibdato resultante foi reduzido, dando origem a uma solução de coloração azul. Após 15 minutos, foi realizada a leitura no espectrofotómetro de feixe duplo Shimadzu UV-1800, num comprimento de onda de 880 nm.

3.4.2 Parâmetros Zootécnicos

A biomassa animal foi medida semanalmente, com recurso a uma balança analítica Marte - SHIMADZU AY220. Essas medições foram feitas individualmente, no início e no final, e em grupo, nas intermédias. A decisão sobre as pesagens em grupo foi tomada a fim de diminuir o *stress* provocado pela manipulação dos animais, uma vez que o intervalo entre medições era de apenas uma semana e essa perturbação tem impacto no seu desenvolvimento. No início e no final, também foi determinado o comprimento total de todos os camarões (distância entre a extremidade anterior do rostro e a extremidade posterior do telso; figura 15), com o auxílio de um paquímetro.

Com os registos de biomassa e comprimento, foram definidas as variáveis de peso inicial (PIc), peso final (PFc), taxa de crescimento específico (TCEc), ganho de peso (GPc), índice de conversão alimentar para a alimentação artificial (IC), comprimento inicial (CI), comprimento final (CF), taxa de alongamento específico (TAE) e ganho de comprimento (GC).



Figura 15 – Medição do comprimento dos animais, com o auxílio de um paquímetro.

A TCEc foi determinada pela fórmula:

$$TCEc (\% \text{ dia} - 1) = \frac{\ln (PFc) - \ln (PIc)}{T} \times 100$$

Na qual, PFc = Peso vivo final,

PIc = Peso vivo inicial,

Ln = logaritmo neperiano,

T = Dias de cultivo.

O GPc foi determinado pela fórmula:

$$GPc (\%) = \frac{(PFc - PIc)}{PIc} \times 100$$

Na qual, PFc = Peso vivo final,

PIc = Peso vivo inicial.

O IC foi determinado pela fórmula:

$$IC = \frac{Paa}{(PF - PI)}$$

Na qual, Paa = Peso seco do alimento artificial fornecido/ consumido,

PF = Peso vivo final,

PI = Peso vivo inicial.

A TAE foi determinada pela fórmula:

$$\text{TAE (\% dia}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Ln (CF)} - \text{Ln (CI)}}{T} \times 100$$

Na qual, CF = Comprimento final,

CI = Comprimento inicial,

Ln = logaritmo neperiano,

T = Dias de cultivo.

O GC foi determinado pela fórmula:

$$\text{GC (\%)} = \frac{(CF - CI)}{CI} \times 100$$

Na qual CF = Comprimento final,

CI = Comprimento inicial.

3.4.3 Parâmetros Ficotécnicos

A biomassa das macroalgas foi medida semanalmente, com recurso a uma balança analítica Marte - SHIMADZU AY220, definindo assim as variáveis de peso inicial (PI_m), peso final (PF_m), de taxa de crescimento específico (TCE_m) e ganho de peso (GP_m).

A TCE_m foi determinada pela fórmula:

$$\text{TCE}_m (\% \text{ dia}^{-1}) = \frac{\text{Ln (PF}_m\text{)} - \text{Ln (PI}_m\text{)}}{T} \times 100$$

Na qual, PF_m = Peso vivo final,

PI_m = Peso vivo inicial,

Ln = logaritmo neperiano,

T = Dias de cultivo.

O GP_m foi determinado pela fórmula:

$$\text{GP}_m (\%) = \frac{(PF_m - PI_m)}{PI_m} \times 100$$

Na qual, PF_m = Peso final fresco,

PI_m = Peso inicial fresco.

3.5 Capacidade de Biofiltração das Macroalgas

A eficiência de absorção de nutrientes das duas espécies de macroalgas (*Gracilaria birdiae* e *Ulva fasciata*) foi determinada com base na redução da concentração dos nutrientes presentes no cultivo ao longo do período experimental, sendo definido que houve apenas disponibilização de nutrientes no monocultivo, com origem na produção animal, e a concentração de nutrientes presente nos co-cultivos corresponde ao que não foi consumido pelas algas. Para os cálculos, foi assumido que a biofiltração por parte de outros organismos presentes no volume foi semelhante nos tanques de co-cultivo e de monocultivo.

A eficiência de absorção de nutrientes (EA) foi determinada pela fórmula:

$$EA (\%) = \frac{C_{\text{mono}} - C_{\text{co}}}{C_{\text{mono}}} \times 100$$

Na qual, C mono = Concentração do nutriente observada no monocultivo,

C co = Concentração do nutriente observada no co-cultivo.

3.6 Análises Estatísticas

A estatística descritiva das variáveis medidas durante o período experimental foi realizada. Foram construídas tabelas e gráficos descritivos, de acordo com as especificidades da variável em questão.

As variáveis foram testadas para as diferenças entre os tratamentos. Caso a hipótese de igualdade entre elas fosse rejeitada e estivessem em causa mais de dois grupos diferentes, foram criados subconjuntos homogêneos pelo teste a 2 amostras independentes. Esse último teste também foi aplicado para as diferenças entre o início e o final do trabalho, quando o parâmetro analisado foi o mesmo (e. g. biomassa).

Para iniciar a estatística inferencial, os dados foram testados para a normalidade (teste de Shapiro-Wilk), a fim aferir sobre a aplicação de um método estatístico paramétrico ou de um não-paramétrico. Para as variáveis normais, foram aplicados métodos paramétricos: análise de variância a um fator (ANOVA One-Way), para k amostras independentes, e o teste T, para 2 amostras independentes. Posteriormente à ANOVA, quando foi rejeitada a hipótese de igualdade entre os tratamentos inerentes, foi feito o teste de Tukey, uma vez que todas essas variáveis apresentaram homogeneidade de variância. Nas variáveis, para as quais foi rejeitada a hipótese de normalidade, foram aplicados os testes não-paramétricos de Kruksal-Wallis, para k amostras independentes, ou de Mann-Whitney, para 2 amostras independentes.

Finalmente, foi aplicada a correlação bivariada não-paramétrica de Spearman ($n=12$), a fim de aferir sobre as relações entre as variáveis ambientais e a taxa de crescimento específico dos camarões (TCEc), a biomassa dos camarões (Pc), a taxa de crescimento específico das macroalgas (TCEm) e a biomassa das macroalgas (Pm), e sobre as relações entre a biomassa das macroalgas (Pm) e a biomassa dos camarões (Pc), para cada um dos tratamentos. A mesma correlação ($n=50$) mostrou as relações entre as variáveis abióticas. Os valores confrontados correspondem às medições semanais.

Um nível de significância de 95% ($\alpha=0,05$) foi estabelecido para todos os testes estatísticos realizados. Os resultados são apresentados como *média \pm desvio-padrão (DP)* e *mínimo – máximo*. A última linha das tabelas descritivas apresenta a estatística do teste que aferiu sobre a igualdade entre todos os tratamentos inerentes. É mencionado o nome do teste, o seu valor e o *P value* consequente. O IBM SPSS Statistics foi o *software* estatístico usado nessas análises.

IV. Resultados

4.1 Parâmetros Ambientais

Os cultivos (mono, coGB e coUF) registaram valores médios de $25,34 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,92$ de temperatura, $4,25 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,58$ de oxigénio dissolvido e $38,90 \text{ psu} \pm 1,81$ de salinidade, durante o período de estudo. Não foram observadas diferenças significativas para essas variáveis, exceto para o pH, o qual variou significativamente entre os diferentes tratamentos ($P=0,001$; Kruskal-Wallis; tabela 3). Os tratamentos de co-cultivo registaram valores de pH significativamente mais básicos, quando comparados com os do monocultivo.

Tabela 3

Valores médios (\pm DP), mínimos e máximos para temperatura, pH, O_2 dissolvido e salinidade nos diferentes tratamentos controle, mono, coGB e coUF, ao longo do trabalho experimental ($n=50$).

		Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	pH	O_2 Dissolvido (mg L^{-1})	Salinidade (psu)
mono	Média (\pm DP)	$25,13 \pm 0,93$	$8,07 \pm 0,05a$	$4,13 \pm 0,32$	$39,07 \pm 1,93$
	Min – Máx	24,07 – 26,64	7,97 – 8,18	3,60 – 4,82	36,31 – 42,10
coGB	Média (\pm DP)	$25,37 \pm 0,90$	$8,21 \pm 0,13b$	$4,18 \pm 0,51$	$38,63 \pm 1,75$
	Min – Máx	24,36 – 26,78	8,01 – 8,52	3,14 – 5,10	36,16 – 41,42
coUF	Média (\pm DP)	$25,51 \pm 0,96$	$8,28 \pm 0,22b$	$4,45 \pm 0,79$	$39,00 \pm 1,85$
	Min – Máx	24,44 – 27,29	7,94 – 8,60	3,43 – 5,81	36,21 – 41,65
Controlo	Média (\pm DP)	$25,06 \pm 0,94$	$8,10 \pm 0,07a$	$4,35 \pm 0,48$	$38,90 \pm 1,95$
	Min – Máx	24,00 – 26,45	7,98 – 8,17	3,64 – 4,95	36,35 – 42,53
Estatística do teste	Teste	H = 4,241 (Kruskal-Wallis)	H = 17,416 (Kruskal-Wallis)	H = 1,485 (Kruskal-Wallis)	H = 1,379 (Kruskal-Wallis)
	P value	0,237	0,001	0,686	0,711

Valores apresentados como *média \pm DP, mínimo - máximo*. A estatística do teste refere-se ao teste que aferiu sobre a igualdade entre todos os tratamentos, para a respetiva variável. Os sobrescritos na mesma coluna indicam subconjuntos homogêneos, de acordo com o teste a 2 amostras independentes aplicado ($\alpha=0,05$).

Relativamente aos nutrientes, os cultivos (mono, coGB e coUF) registaram valores médios de $0,136 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,200$ de amónia total e $0,035 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,025$ de fósforo inorgânico dissolvido, não sendo observadas diferenças significativas nas concentrações desses nutrientes. Por outro lado, o nitrito, o nitrato e o azoto inorgânico dissolvido variaram significativamente entre os diferentes tratamentos ($P<0,001$; Kruskal-Wallis). Nos tratamentos de co-cultivo, as concentrações dessas três últimas variáveis significativamente inferiores, quando comparadas com o monocultivo (tabela 4).

Tabela 4

Valores médios (\pm DP), mínimos e máximos para amónia total (NH_4^+ e NH_3), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), azoto inorgânico dissolvido (NID = nitrito + nitrato + amónia total) e fósforo inorgânico dissolvido (PO_4^{3-}) nos diferentes tratamentos controlo, mono, coGB e coUF, ao longo do trabalho experimental (n=50).

		NH_4^+ e NH_3 (mg L ⁻¹)	NO_2^- (mg L ⁻¹)	NO_3^- (mg L ⁻¹)	NID (mg L ⁻¹)	PO_4^{3-} (mg L ⁻¹)
mono	Média (\pm DP)	0,199 \pm 0,210	0,031 \pm 0,031a	0,633 \pm 0,996a	0,863 \pm 0,985a	0,031 \pm 0,019a
	Min – Máx	0,010 – 0,679	0,016 – 0,130	0,111 – 2,785	0,153 – 3,010	0,000 – 0,052
coGB	Média (\pm DP)	0,142 \pm 0,168	0,006 \pm 0,006b	0,051 \pm 0,060b	0,198 \pm 0,142bc	0,040 \pm 0,029a
	Min – Máx	0,000 – 0,536	0,000 – 0,016	0,000 – 0,128	0,007 – 0,539	0,000 – 0,112
coUF	Média (\pm DP)	0,148 \pm 0,226	0,004 \pm 0,006b	0,037 \pm 0,052b	0,189 \pm 0,226c	0,035 \pm 0,025a
	Min – Máx	0,000 – 0,744	0,000 – 0,016	0,000 – 0,128	0,004 – 0,823	0,000 – 0,070
controlo	Média (\pm DP)	0,136 \pm 0,166	0,006 \pm 0,006b	1,199 \pm 0,136a	0,340 \pm 0,101ab	0,015 \pm 0,020b
	Min – Máx	0,002 – 0,342	0,000 – 0,016	0,055 – 0,357	0,154 – 0,440	0,000 – 0,044
Estatística do teste		H = 2,578	H = 30,580	H = 29,098	H = 18,198	H = 8,217
	Teste	(Kruskal- Wallis)	(Kruskal- Wallis)	(Kruskal- Wallis)	(Kruskal- Wallis)	(Kruskal- Wallis)
	P value	0,461	<0,001	<0,001	<0,001	0,042

4.2 Parâmetros Zootécnicos

Os pesos iniciais (peso médio de 2,78 g \pm 0,29) não diferiram significativamente, entre os tratamentos ($P=0,242$; ANOVA one-way). Para todos eles, houve aumento significativo da biomassa dos animais ($P<0,001$; Mann-Whitney), sendo o peso final 4,10 g \pm 0,49 para o mono, 4,10 g \pm 0,37 para o coGB e 4,53 g \pm 0,36 para o coUF. O cultivo com *Ulva fasciata* apresentou valores mais elevados que os demais. O mono registou 1,37 % d⁻¹ \pm 0,49 de taxa de crescimento específico (TCEc) e 47,97 % \pm 20,25 de ganho de peso (GPc), o coGB 1,29 % d⁻¹ \pm 0,37 e 44,46 % \pm 14,98 e o coUF 1,88 % d⁻¹ \pm 0,29 e 69,85 % \pm 13,86, respetivamente. Os índices de conversão registados foram de 3,50 \pm 1,54 (mono), 3,78 \pm 1,88 (coGB) e 2,44 \pm 0,46 (coUF; tabela 5). O tratamento coUF mostrou-se significativamente superior ao longo do estudo, com menores necessidades de alimento artificial para aumentar uma unidade de biomassa. Não houve qualquer perda animal (sobrevivência de 100%), durante as quatro semanas de trabalho.

Tabela 5

Valores médios (\pm DP), mínimos e máximos para peso inicial (PIc), peso final (PFc), taxa de crescimento específico (TCEc), ganho de peso (GPc), índice de conversão alimentar para a alimentação artificial (IC) e sobrevivência (Sobrev) dos camarões, pertencentes aos diferentes tratamentos mono, coGB e coUF (n=45).

		PIc (g)	PFc (g)	TCEc (% d ⁻¹)	GPc (%)	IC	Sobrev (%)
mono	Média (\pm DP)	2,80 \pm 0,40	4,10 \pm 0,49a	1,37 \pm 0,49a	47,97 \pm 20,25a	3,50 \pm 1,54a	100
	Min – Máx	2,19 – 3,42	3,18 – 4,81	0,55 – 2,23	16,62 – 86,76	1,97 – 7,11	
coGB	Média (\pm DP)	2,85 \pm 0,23	4,10 \pm 0,37a	1,29 \pm 0,37a	44,46 \pm 14,98a	3,78 \pm 1,88a	100
	Min – Máx	2,40 – 3,15	3,53 – 4,79	0,45 – 2,08	13,50 – 79,17	2,18 – 9,86	
coUF	Média (\pm DP)	2,68 \pm 0,19	4,53 \pm 0,36b	1,88 \pm 0,29b	69,85 \pm 13,86b	2,44 \pm 0,46b	100
	Min – Máx	2,42 – 3,09	3,99 – 5,22	1,33 – 2,39	45,09 – 95,24	1,83 – 3,55	
Estatística do teste		F = 1,469	F = 5,634	F = 9,853	F = 10,308	H = 10,800	
	Teste	(ANOVA one-way)	(ANOVA one-way)	(ANOVA one-way)	(ANOVA one-way)	(Kruskal- Wallis)	
	P value	0,242	0,007	<0,001	<0,001	0,005	

TCEc = $[(\ln \text{PF} - \ln \text{PI}) / \text{número de dias de trabalho}] \times 100$

GPc (%) = $[(\text{PF} - \text{PI}) / \text{PI}] \times 100$

IC = peso seco do alimento artificial fornecido/consumido (g) / (PF – PI)

Sobrevivência (%) = (número final de camarões / número inicial de camarões) \times 100

Os comprimentos iniciais diferiram significativamente entre os tratamentos ($P=0,012$; ANOVA one-way). Tendo havido alongamento significativo dos animais em todos os tratamentos ($P<0,001$; Mann-Whitney), os comprimentos finais foram 8,59 cm \pm 0,35 no mono, 8,83 cm \pm 0,26 no coGB e 9,04 cm \pm 0,31 no coUF (tabela 6). O comprimento do coUF, obtido no final do trabalho, foi superior aos demais tratamentos. O mono registou 0,75 % d⁻¹ \pm 0,13 de taxa de alongamento específico e 23,54 % \pm 4,42 de ganho de comprimento, o coGB 0,83 % d⁻¹ \pm 0,11 e 26,30 % \pm 3,80 e o coUF 1,09 % d⁻¹ \pm 0,16 e 35,75 % \pm 6,29, respetivamente.

Tabela 6

Valores médios (\pm DP), mínimos e máximos para comprimento inicial (CI), comprimento final (CF), taxa de alongamento específico (TAE) e ganho de comprimento (GC) dos camarões, pertencentes aos diferentes tratamentos mono, coGB e coUF (n=45).

		CI (cm)	CF (cm)	TAE (% d ⁻¹)	GC (%)
mono	Média (\pm DP)	6,96 \pm 0,40a	8,59 \pm 0,35a	0,75 \pm 0,13a	23,54 \pm 4,42a
	Min – Máx	6,30 – 7,60	8,00 – 9,10	0,58 – 0,95	17,65 – 30,30
coGB	Média (\pm DP)	6,99 \pm 0,27a	8,83 \pm 0,26ab	0,83 \pm 0,11a	26,30 \pm 3,80a
	Min – Máx	6,60 – 7,60	8,40 – 9,30	0,64 – 0,99	19,74 – 31,82
coUF	Média (\pm DP)	6,67 \pm 0,26b	9,04 \pm 0,31b	1,09 \pm 0,16b	35,75 \pm 6,29b
	Min – Máx	6,30 – 7,10	8,60 – 9,60	0,79 – 1,39	24,64 – 47,69
Estatística do teste	Teste	F = 4,918 (ANOVA one-way)	F = 8,056 (ANOVA one-way)	F = 25,187 (ANOVA one-way)	F = 25,140 (ANOVA one-way)
	P value	0,012	0,001	<0,001	<0,001

TAE = $[(\ln CF - \ln CI) / \text{número de dias de cultivo}] \times 100$

GC (%) = $[(CF - CI) / CI] \times 100$

Os valores máximos de biomassa animal (figura 16) foram obtidos no tratamento coUF (4,53 g \pm 0,36), seguido pelo coGB (4,10 g \pm 0,37). Os camarões cultivados sem a presença de macroalgas (mono) apresentaram valores médios de biomassa inferiores ao longo do trabalho experimental. A mesma tendência foi observada na taxa de crescimento específico, demonstrando superioridade dos camarões cultivados com *Ulva fasciata* (coUF). Os valores obtidos no estudo foram: 1,88 % d⁻¹ \pm 0,29 para o coUF; 1,29 % d⁻¹ \pm 0,37 para o coGB e 1,37 % d⁻¹ \pm 0,49 para o mono (figura 17).

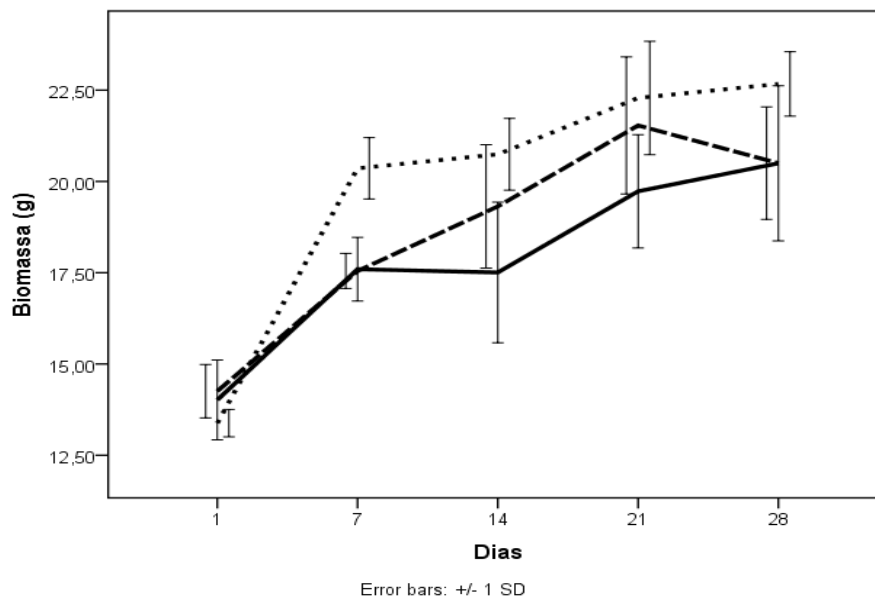


Figura 16 – Variação da biomassa animal (g) dos tratamentos mono (traço contínuo), coGB (tracejado) e coUF (pontuado), ao longo do período experimental.

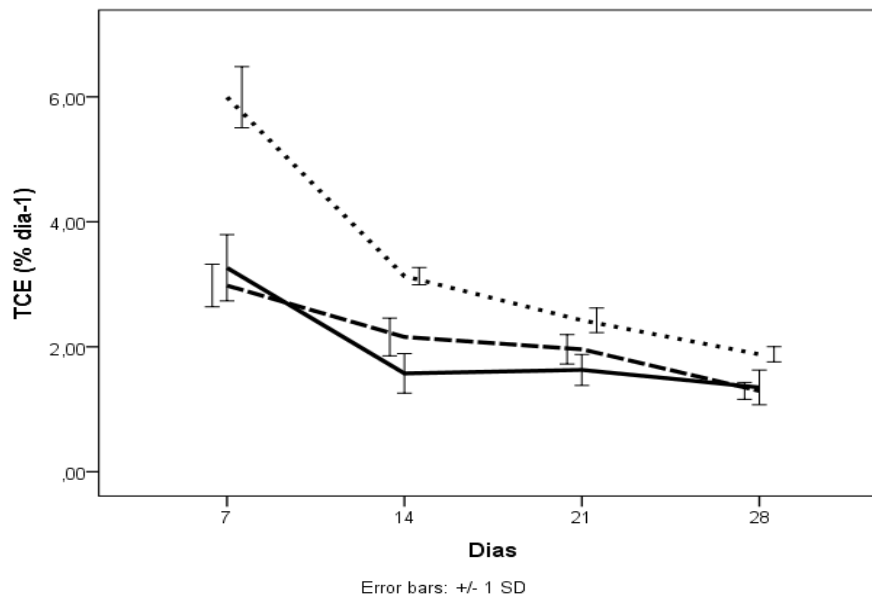


Figura 17 – Variação da taxa de crescimento específico (% d⁻¹) dos tratamentos mono (traço contínuo), coGB (tracejado) e coUF (pontuado), ao longo do período experimental.

4.3 Parâmetros Ficotécnicos

A biomassa da *Gracilaria birdiae* aumentou significativamente ($P=0,037$; Mann-Whitney) durante o trabalho, atingindo um valor final de $137,41 \text{ g} \pm 4,54$. Ao contrário da *G. birdiae*, o crescimento da *U. fasciata* não foi significativo ($P=0,487$; Mann-Whitney), chegando a apresentar perda de biomassa e finalizando com $107,55 \text{ g} \pm 26,04$. Apesar desses parâmetros ficotécnicos terem sido superiores para a *G. birdiae*, o peso final ($P=0,122$; T-test), taxa de crescimento específico ($P=0,138$; T-test) e ganho de peso ($P=0,122$; T-test) não apresentaram diferenças significativas entre as duas espécies estudadas (tabela 7).

Tabela 7

Valores para peso inicial (Plm), peso final (PFm), taxa de crescimento específico (TCEm) e ganho de peso (GPm) das macroalgas *G. birdiae* e *U. fasciata* ($n=6$).

		Plm (g)	PFm (g)	TCEm (% d ⁻¹)	GPm (%)
<i>G. birdiae</i>	Média (± DP)	100	$137,41 \pm 4,54$	$1,13 \pm 0,12$	$37,41 \pm 4,54$
	Min – Máx		132,73 – 141,80	1,01 – 1,25	32,73 – 41,80
<i>U. fasciata</i>	Média (± DP)	100	$107,55 \pm 26,04$	$0,19 \pm 0,88$	$7,55 \pm 26,04$
	Min – Máx		82,06 – 134,11	- 0,71 – 1,05	- 17,94 – 34,11
Estatística do teste	Teste		$t = 1,956$ (T-test)	$t = 1,845$ (T-test)	$t = 1,956$ (T-test)
	P value		0,122	0,139	0,122

TCEm = $[(\ln \text{PF} - \ln \text{PI}) / \text{número de dias de trabalho}] \times 100$

GPm (%) = $[(\text{CF} - \text{CI}) / \text{CI}] \times 100$

Na figura 18, é representado o aumento contínuo da biomassa de *G. birdiae*. Por seu lado, a curva da biomassa de *Ulva fasciata* mostra ganhos e perdas ao longo das semanas. A perda de biomassa esteve relacionada com o consumo de *U. fasciata* pelos camarões. Isto ficou constatado pelos danos/cortes apresentados nos talos das algas e pela presença de algas no trato digestivo dos animais.

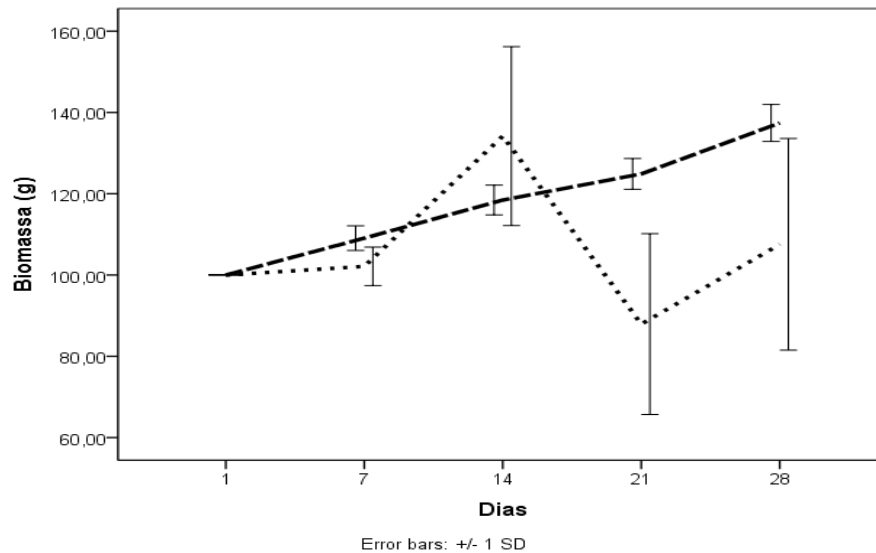


Figura 18 – Variação da biomassa das macroalgas (g) *Gracilaria birdiae* (tracejado) e *Ulva fasciata* (pontuado), ao longo do período experimental.

Durante o período experimental, a espécie *G. birdiae* apresentou valores positivos de crescimento, com valores médio entre os 1,06 e os 1,23 % d⁻¹. Por outro lado, a TCEm da *U. fasciata* intercalou valores positivos com valores negativos (figura 19). Os valores máximos atingidos pela *G. birdiae* foi 1,66 % d⁻¹ e pela *Ulva fasciata* 2,95 % d⁻¹.

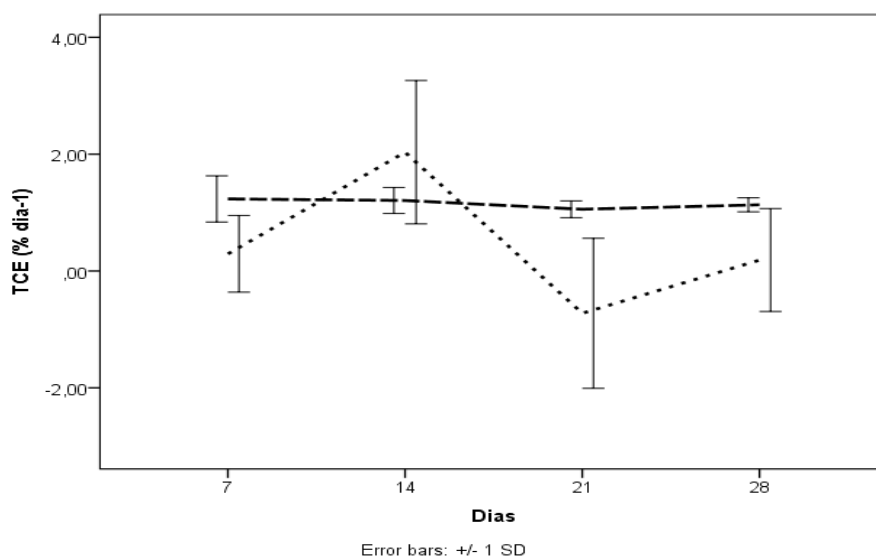


Figura 19 – Variação da taxa de crescimento específico (% d⁻¹) da macroalgas *Gracilaria birdiae* (tracejado) e *Ulva fasciata* (pontuado), ao longo do período experimental.

4.4 Capacidade de Biofiltração das Macroalgas

Os nutrientes nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) foram absorvidos, de forma significativa, pelas duas macroalgas ($P < 0,001$; Kruskal-Wallis). Ao longo de todo o período experimental, as concentrações registadas no monocultivo desses dois nutrientes foram superiores aos tratamentos com macroalgas (coGB e coUF; figuras 20 e 21). As macroalgas diminuíram cerca de $0,080 \text{ mg L}^{-1}$ a concentração de NO_2^- e cerca de $2,480 \text{ mg L}^{-1}$ a concentração de NO_3^- na quarta semana de trabalho. Esses valores correspondem a capacidades de absorção de $93\% \pm 7$ para o NO_2^- e $97\% \pm 3$ para o NO_3^- na *G. birdiae* e de $97\% \pm 4$ e $94\% \pm 15$, respetivamente, na *U. fasciata* (anexos 5 e 6).

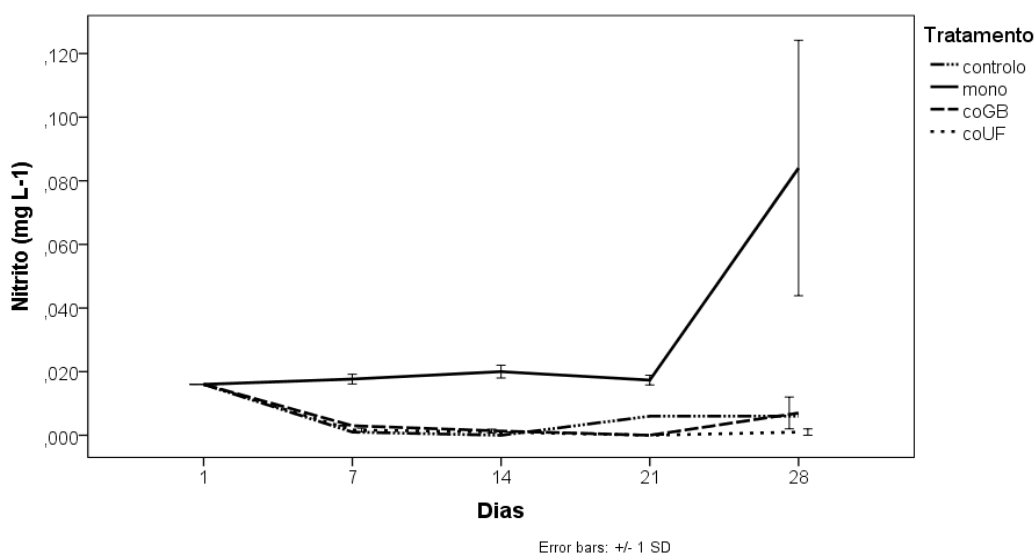


Figura 20 – Variação das concentrações de nitrito (mg L^{-1}) no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.

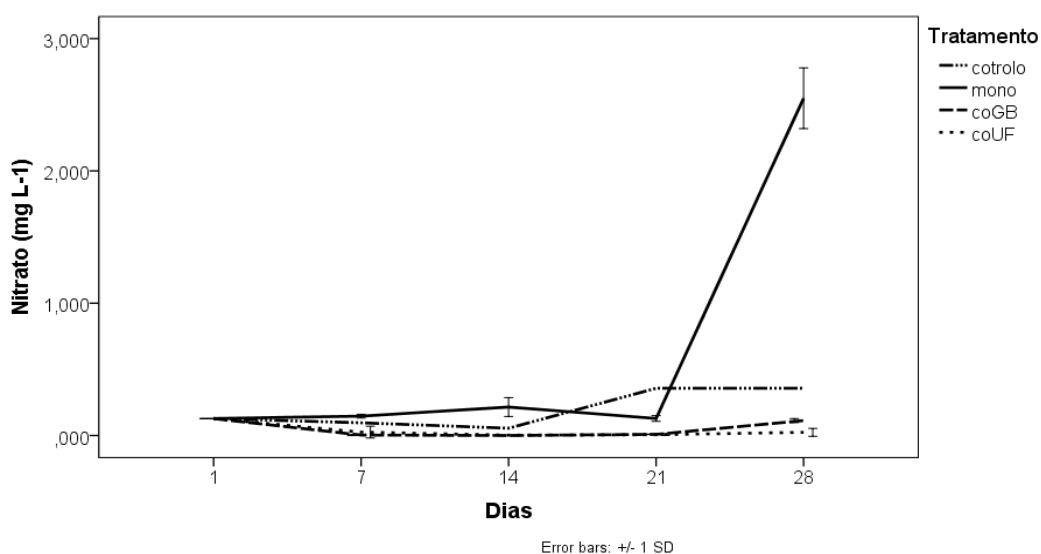


Figura 21 – Variação das concentrações de nitrato (mg L^{-1}) no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.

A concentração de amónia apresentou um aumento considerável na primeira semana do período experimental (7 dias). Posteriormente, a concentração diminuiu atingindo valores médios globais de $0,199 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,210$ (mono), $0,142 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,168$ (coGB) e $0,148 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,226$ (coUF). A variação das concentrações foi semelhante para todos os tratamentos (figura 22).

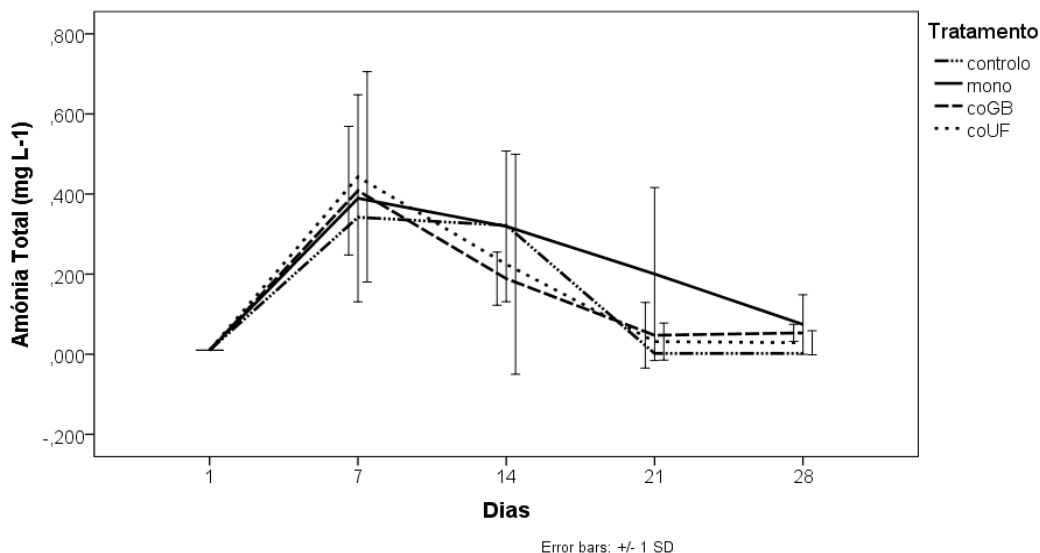


Figura 22 – Variação das concentrações de amónia total (mg L^{-1}) no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.

Ao longo de todo o período experimental, as concentrações de azoto inorgânico dissolvido registadas no monocultivo foram sempre superiores às concentrações registadas nos co-cultivos (figura 23). A remoção desse nutriente dos tanques de cultivo correspondeu a eficiências de absorção globais de $67\% \pm 32$ na *G. birdiae* e de $65\% \pm 47$ na *U. fasciata*.

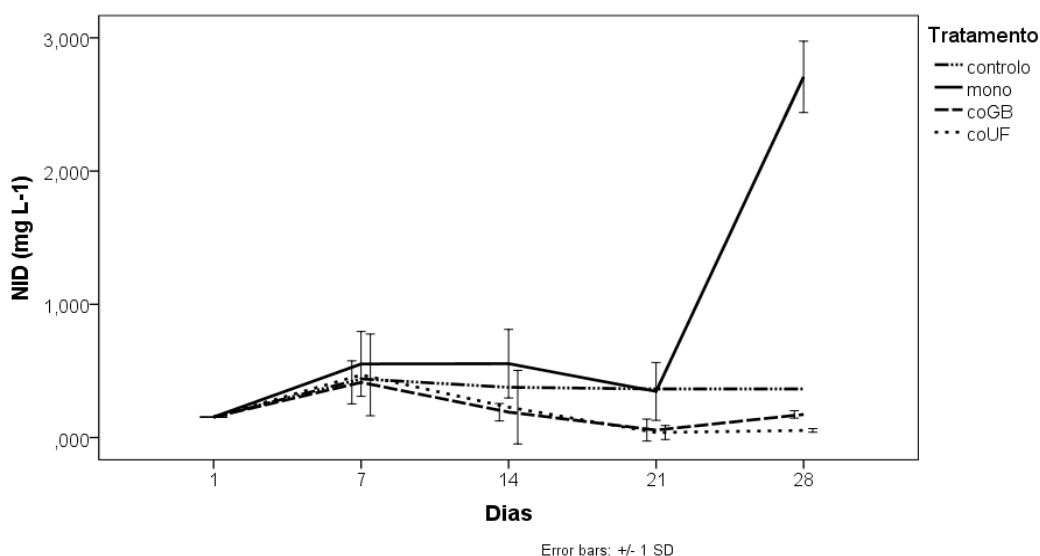


Figura 23 – Variação das concentrações de azoto inorgânico dissolvido (mg L^{-1} ; NID) no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.

As concentrações do fósforo inorgânico dissolvido apresentaram valores que oscilaram entre 0,000 e 0,112 mg L⁻¹ ± 0,210, com média de 0,035 mg L⁻¹ ± 0,025 (figura 24). Durante o período experimental, a remoção deste nutriente pelas algas foi muito reduzida (≈ 3,5%).

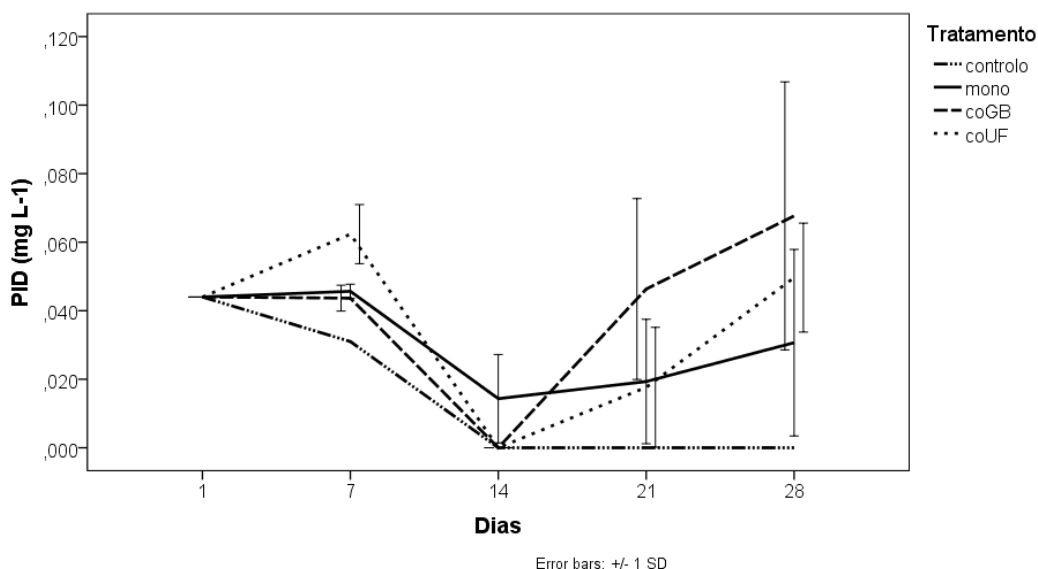


Figura 24 – Variação das concentrações de fósforo inorgânico dissolvido (mg L⁻¹; PID) no controle e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.

4.5 Correlações

Quando os dados recolhidos foram sujeitos à correlação bivariada não-paramétrica de Spearman, a qual investigou sobre as relações entre as variáveis ambientais e as taxas de crescimento específico dos camarões (TCEc) para cada um dos tratamentos (anexo 8), foram encontradas relações significativas. Quando a concentração de nitrito foi menor, registaram-se maiores crescimentos dos camarões do tratamento mono ($r_s = -0,669$, $P = 0,017$). Por outro lado, quando a concentração de nitrato foi menor, registaram-se maiores crescimentos dos camarões do coGB ($r_s = 0,676$, $P = 0,016$). No caso do coUF, registaram-se maiores crescimentos quando os valores de pH e as concentrações de amónia e de azoto inorgânico dissolvido foram superiores ($r_s = 0,678$, $P = 0,015$; $r_s = 0,872$, $P < 0,001$; $r_s = 0,884$, $P = 0,001$, respetivamente). Quando confrontada a biomassa dos camarões (Pc), também foram encontrados efeitos das variáveis abióticas. A relação entre o Pc (mono) e o NID ($r_s = 0,651$, $P = 0,022$) mostra que, quando os animais do mono foram maiores, a quantidade de azoto inorgânico dissolvido foi superior. No tratamento coGB, as concentrações de amónia e NID diminuíram e a salinidade aumentou, quando a biomassa dos animais registou valores mais altos ($r_s = 0,643$, $P = 0,024$; $r_s = -0,658$, $P = 0,020$; $r_s = -0,664$, $P = 0,018$, respetivamente).

Por seu lado, a correlação que investigou sobre as relações entre as variáveis ambientais e as taxas de crescimento específico das macroalgas (TCEm) não encontrou qualquer relação significativa. Por outro lado, quando confrontada a biomassa das macroalgas (Pm) *Gracilaria birdiae* e *Ulva fasciata* (anexo 8), foram encontradas várias correlações significativas. Segundo este teste estatístico, quando a biomassa da *G. birdiae* aumentou, a concentração de nitrato também aumentou ($r_s=0,687$, $P=0,014$). Pelo contrário, as concentrações de amónia e a de NID diminuíram ($r_s=-0,760$, $P=0,004$; $r_s=-0,622$, $P=0,031$), demonstrando maior consumo destes dois últimos nutrientes. Por sua vez, quando a biomassa de *U. fasciata* aumentou, a concentração de oxigénio dissolvido aumentou ($r_s=0,601$, $P=0,039$), demonstrando a sua maior disponibilização para a água de cultivo.

Foram encontradas relações significativas entre a biomassa dos camarões e a biomassa das macroalgas. Tal como esperado, quando a biomassa dos camarões do tratamento coGB aumentou, a biomassa da *Gracilaria birdiae* também aumentou ($r_s=0,783$, $P=0,003$). Por outro lado, quando a biomassa dos camarões do tratamento coUF aumentou, a biomassa da *Ulva fasciata* diminuiu ($r_s=-0,608$, $P=0,036$; anexo 7), demonstrando o provável consumo destas macroalgas.

Finalmente, foram encontradas relações entre as variáveis abióticas (anexo 9). Enquanto a temperatura aumentou, os valores de pH também aumentaram ($r_s=0,481$, $P<0,001$). Por sua vez, o pH e a concentração de oxigénio dissolvido estiveram positivamente correlacionados ($r_s=0,287$, $P=0,043$). O aumento da salinidade e o aumento da temperatura estiveram significativamente correlacionados ($r_s=0,569$, $P<0,001$). A concentração do azoto inorgânico dissolvido (NID) esteve fortemente relacionada com a de amónia total ($r_s=0,810$, $P<0,001$). Também foi encontrada relação positiva com a de nitrito ($r_s=0,384$, $P=0,006$).

V. Discussão

5.1 Parâmetros Ambientais

A presença das macroalgas afetou os parâmetros ambientais dos cultivos de camarões, nomeadamente o oxigénio dissolvido, o pH e as concentrações de nutrientes azotados. Durante o período de estudo, mesmo não havendo diferenças significativas entre os tratamentos, os valores de oxigénio dissolvido foram superiores nos co-cultivos (coGB e coUF), demonstrando assim a provável disponibilização de oxigénio para o ambiente. A correlação de Spearman que investigou sobre as relações entre as variáveis ambientais e a biomassa das macroalgas (anexo 8), encontrou uma relação positiva e significativa ($r_s=0,601$, $P=0,039$) entre a biomassa da *U. fasciata* e concentração de oxigénio dissolvido, demonstrando a sua disponibilização. Noutros estudos realizados (Copertino *et al.*, 2009; Cruz-Suarez *et al.*, 2010; Koi & Fotedar, 2011; Neori *et al.*, 1996; Xu *et al.*, 2008a; Xu *et al.*, 2008b), também foi observado um aumento da concentração de oxigénio nos cultivos experimentais com macroalgas. A disponibilização de oxigénio pelas macroalgas melhora o ambiente de cultivo e possibilita uma poupança energética – e, consequentemente, económica – com a suplementação de ar no viveiro. Uma vez que, durante o processo de fotossíntese, dióxido de carbono é utilizado e oxigénio é disponibilizado, pode-se afirmar que a presença das macroalgas tem efeito nas concentrações dessas moléculas na água de cultivo.

O dióxido do carbono (CO_2), o qual é produto da respiração dos organismos, tem um efeito direto nos valores de pH, definido pelo logaritmo negativo da concentração de ião hidrogénio. Por reação desse com as moléculas de água, os produtos formados são o ião bicarbonato (HCO_3^-) e o ião hidrogénio (H^+). Se a sua concentração aumenta, a concentração de H^+ aumenta também e o pH diminui. Os organismos fotossintéticos removem o CO_2 do meio, utilizando-o como fonte de carbono exógeno para a fotossíntese. Então, reciprocamente, se o CO_2 é removido do meio, a concentração de H^+ cai e o pH sobe (Boyd, 1998). Sendo assim, o dióxido de carbono tem poder ácido e, no presente estudo, os valores de pH apresentaram-se significativamente inferiores no monocultivo, relativamente aos co-cultivos, nos quais estiveram presentes organismos fotossintéticos (macroalgas). Registos superiores de pH são frequentemente descritos nos trabalhos de cultivo integrado (Copertino *et al.*, 2009; Koi & Fotedar, 2011; Xu *et al.*, 2008a; Xu *et al.*, 2008b; Zhou *et al.*, 2006). O consumo de carbono pelas macroalgas, e consequente efeito no pH, melhora o ambiente de cultivo. O pH 8,1 é o mais adequado ao desenvolvimento de *L. vannamei*, que é mais sensível a valores de pH baixos (Zhang *et al.*, 2006).

O aumento da salinidade, ao longo do trabalho experimental, foi influenciado pela taxa de evaporação, ocasionada pelo aumento da velocidade do vento, característico desse período do ano na região Nordeste do Brasil. Contudo, os valores mais elevados registrados nas últimas semanas de estudo estiveram dentro do padrão para a espécie *Litopenaeus vannamei*. Quanto a temperatura da água, esta manteve-se de acordo com os padrões normais para a região de estudo (tropical). As variações de temperatura observadas estiveram diretamente relacionadas com as condições climáticas locais.

As macroalgas utilizam o azoto inorgânico dissolvido, na forma de nitrito, nitrato e amônia, e o fósforo inorgânico dissolvido, na forma de ortofosfato, nos seus processos metabólicos. O seu desenvolvimento é limitado pela presença de azoto, tendo preferência pela forma amônia (NH_4^+). A NH_4^+ é a forma azotada mais reduzida e, portanto, a mais vantajosa do ponto de vista energético (Hanisak, 1983; Lobban *et al.* 1985). Assim, é esperado o consumo desses nutrientes quando os organismos fotossintéticos se encontram no volume de cultivo. No presente trabalho, as duas espécies de macroalgas utilizaram os nutrientes disponibilizados pela produção animal, nomeadamente os compostos azotados inorgânicos dissolvidos, para o seu desenvolvimento. Essa afirmação sustenta-se em aumentos significativos de biomassa ao longo do período experimental (discutido no ponto 5.3 Parâmetros Ficotécnicos); diferenças significativas de concentração de nutrientes entre os co-cultivos e o monocultivo, para as variáveis nitrito, nitrato e NID (tabela 4), as quais demonstraram consumo desses compostos azotados; e valores elevados de eficiência de absorção (discutido no ponto 5.4 Capacidade de Biofiltração das Macroalgas).

5.2 Parâmetros Zootécnicos

A introdução da macroalga *Ulva fasciata* (UF) melhorou significativamente os parâmetros zootécnicos avaliados neste trabalho. Especificamente, a taxa de crescimento específico dos camarões marinhos em co-cultivo com *Ulva* foi superior em cerca de 40%, relativamente aos do monocultivo (mono). Foi também encontrada uma correlação negativa e significativa ($r_s = -0,608$, $P = 0,036$) entre a biomassa dos camarões do tratamento coUF e a biomassa de *U. fasciata*, demonstrando o seu provável consumo. Adicionalmente, durante o trabalho experimental, foram observadas mordidas nas estruturas destas macroalgas (figura 25), cor esverdeada do trato digestivo e das fezes dos animais sob essas condições experimentais (observação pessoal; figura 25). O consumo alimentar destas algas verdes, demonstrado pelas observações pessoais mencionadas anteriormente, parece ser a justificação para a melhoria dos parâmetros zootécnicos. Os co-cultivos de Cruz-Suarez *et al.* (2010), Tsutsui *et al.* (2010), Porchas Cornejo *et al.* (1999) e Portillo-Clark *et al.* (2012)

observaram consumo e demonstraram a palatibilidade das macroalgas verdes (Chlorophyta; *Ulva clathrata*, *Chaetomorpha ligustica* e *Caulerpa sertularoides*, respetivamente) para os camarões marinhos, resultando também em crescimentos significativamente superiores dos animais em co-cultivo, relativamente aos de monocultivo.



Figura 25 – Exemplares de *Gracilaria birdiae* (A) e *Ulva fasciata* (B), no final do trabalho experimental. São visíveis os cortes, provocados pelas mordidas dos camarões, nas estruturas da *Ulva*.

No presente trabalho, o índice de conversão alimentar (IC) foi calculado, considerando que a ração foi a única fonte de nutrientes para os animais. Embora este cálculo exclua a contribuição da *Ulva fasciata* para a nutrição dos camarões, a determinação do IC é útil para a visualização da poupança em alimentação artificial e para a estimativa do custo alimentar por unidade de biomassa animal produzida. Neste trabalho, o consumo das macroalgas permitiu uma poupança de cerca de 1 grama de alimento por cada grama de ganho de biomassa dos animais, comparando com o monocultivo. Vantagem semelhante foi registada por Cruz-Suarez *et al.* (2010), com uma poupança de 1,4 gramas.

Outra espécie de *Ulva* foi incorporada na dieta artificial (Cruz-Suárez *et al.*, 2009). Nesse estudo, o alimento artificial contendo *Ulva* superiorizou-se no peso final, na taxa de conversão alimentar e na taxa de eficiência proteica, relativamente aos alimentos artificiais contendo algas castanhas (Ochrophyta). A boa qualidade nutricional do género *Ulva*, nomeadamente o elevado teor proteico (superior a 20% na matéria seca; Cruz-Suárez *et al.*, 2010; Khoi & Fotedar, 2011; Neori *et al.*, 2000; Ventura & Castañón, 1998), contribuiu

provavelmente para os bons resultados zootécnicos obtidos com o género. Assim, o co-cultivo de camarão marinho e macroalgas verdes (Chlorophyta), ou especificamente com o género *Ulva*, tendo como objectivo a diminuição das necessidades em alimento artificial, demonstra ser uma boa alternativa.

No co-cultivo com a macroalga vermelha *Gracilaria birdiae* (GB), os espécimes vegetais não apresentaram mordidas e não se observou coloração particular nem do trato digestivo nem das fezes dos animais sujeitos a esse tratamento (observação pessoal). Sendo que os parâmetros zootécnicos finais não diferiram significativamente entre os tratamentos mono e coGB, esses dados enfatizam a contribuição da *Ulva fasciata*, e a não contribuição da *Gracilaria birdiae*, para a nutrição dos camarões. Ao contrário das algas verdes, não existem trabalhos publicados, que apresentem as algas vermelhas frescas como alternativa alimentar para camarão. No caso da espécie utilizada neste trabalho (*G. birdiae*), os seus talos são cilíndricos, rijos e carnudos, sendo esta a provável justificação para o não consumo. Ainda assim, a utilização de uma espécie adequada à morfologia alimentar do *L. vannamei* poderá dar resultados positivos, uma vez que este género (Briggs & Funge-Smith, 1996; Marinho-Soriano *et al.*, 2007; Peñaflorida & Golez, 1996) e as algas vermelhas (*Rhodophyta*; Da Silva & Barbosa, 2009) já demonstraram ser bons ingredientes alternativos a incorporar no alimento artificial de camarão.

Para além da componente nutricional, o desenvolvimento dos camarões pode ter sido beneficiado também pela função de abrigo, desempenhada pela *Ulva fasciata*. Por sua vez, a *Gracilaria birdiae* poderá não ter desempenhado tão bem essa função, devido à menor área de cobertura dos seus talos. Durante todo o período de trabalho, os animais procuraram preferencialmente as regiões mais abrigadas dos tanques, permanecendo junto às macroalgas (caso dos co-cultivos) e junto à face do tanque sem luz solar direta (caso do monocultivo; observação pessoal). Provavelmente, a *Ulva* criou, para esta espécie animal de hábitos de vida bentónicos, um refúgio neste sistema artificial de cultivo. Sogard & Able (1991) observou que habitats estuarinos naturais, onde a espécie *Ulva lactuca* é a vegetação dominante, abrigam grande densidade de crustáceos decápodes, demonstrando que esse substrato é de boa qualidade para o seu desenvolvimento.

Foram observadas diferenças significativas em várias variáveis abióticas e ocorreram correlações significativas entre estas e a taxa de crescimento específico do camarão. Contudo, as relações não foram comuns para todos os tratamentos e nenhum dos valores registados ultrapassou os limites descritos na bibliografia, para o bom desempenho zootécnico dos camarões. Os resultados experimentais das referências bibliográficas são:

Concentração de Oxigénio Dissolvido - Diaz & Rosenberg (1995) definiram o nível de hipóxia, ou de baixa concentração de oxigénio, para a fauna bentónica abaixo de 2,8 mg L⁻¹. Todas as medições do presente trabalho encontraram-se acima de 3,14 mg L⁻¹;

Valores de pH - Zhang *et al.* (2006) reportaram que valores de pH 8,1 não afetam a atividade metabólica de *L. vannamei*, e que este é mais sensível a valores de pH baixos. No presente trabalho, as medições de pH registaram-se entre de 8 e 8,6.

Temperatura e Salinidade - Ponce-Palafox *et al.* (1997) determinaram que os melhores crescimentos são alcançados na faixa de temperatura 25 – 35°C e de salinidade 33 – 40 psu, para *L. vannamei*. Os valores médios registados no presente trabalho (25,34 °C, para a temperatura, e 38,90 psu, para a salinidade) encontram-se dentro das faixas descritas pelos autores.

Concentração de Amónia - Racotta & Hernández-Herrera (2000) observou alterações metabólicas negativas quando juvenis de *L. vannamei* foram expostos a concentrações de 2,14 mmol de amónia por litro, em condições de 28 °C de temperatura e 39 psu de salinidade. A máxima concentração de amónia registada, no presente trabalho, foi de 0,041 mmol L⁻¹.

Concentração de Nitrito - Lin & Chen (2003) registaram que, a 35 psu de salinidade, o valor de concentração letal de nitrito (LC50) para o *L. vannamei* encontra-se nas 257,2 mg L⁻¹. A máxima concentração de nitrito registada, no presente trabalho, foi de 0,013 mg L⁻¹.

Concentração de Nitrato - Tsai & Chen (2002) registaram que, a 35 psu de salinidade, o valor de concentração letal de nitrato (LC50) para o *L. vannamei* encontra-se nas 4970 mg L⁻¹. A máxima concentração de nitrato registada, no presente trabalho, foi de 2,78 mg L⁻¹.

5.3 Parâmetros Ficotécnicos

A *Gracilaria birdiae* teve um aumento contínuo de biomassa ao longo do período experimental, apresentando, no final, um crescimento significativo. A taxa de crescimento específico, calculada para as quatro semanas de trabalho, foi de 1,13% dia⁻¹. Aplicando a mesma espécie na biofiltração de efluentes de carcinicultura, Marinho-Soriano *et al.* (2009b) registaram taxas de crescimento específico de 2,6% dia⁻¹. Por sua vez, Marinho-Soriano *et al.* (2009a) introduziram *G. caudata* num viveiro de camarão e conseguiram taxas de 3,32% dia⁻¹. A *G. fisheri* e a *G. tenuistipitata* registaram taxas de 3,08% dia⁻¹ e 2,68% dia⁻¹,

respetivamente (Chiripart & Lewmanomont, 2004), a *G. lichenoides* de 4% dia⁻¹ (Xu *et al.*, 2008a) e a *G. parvispora* 10,4% dia⁻¹ (Nelson *et al.*, 2001). Assim, é plausível esperar melhores crescimentos.

O azoto é limitante para o crescimento das macroalgas (Lobban *et al.*, 1985). Nos trabalhos experimentais com espécies de *Gracilaria*, a disponibilização de nutrientes azotados foi superior à observada no presente trabalho (Chiripart & Lewmanomont, 2004; Marinho-Soriano *et al.*, 2009b; Nelson *et al.*, 2001; Xu *et al.*, 2008b; Zhou *et al.*, 2006). Neles também foram registados crescimentos superiores das macroalgas. Assim, a baixa concentração de azoto é, provavelmente, a causa para os menores crescimentos registados. Devem ser esperados melhores desempenhos ficotécnicos por parte da *G. birdiae*, quando exposta a concentrações superiores.

Por seu lado, a *Ulva fasciata* teve grande variação da biomassa ao longo do período experimental, não apresentando, no final, um crescimento significativo. Ainda assim, registou-se um valor de biomassa final superior ao inicial e um máximo de 2,95 % dia⁻¹ na TCEc à segunda semana de trabalho. A justificação para o pouco aumento e grande variação da biomassa é, provavelmente, o já discutido consumo por parte dos camarões. O bom crescimento do género já foi documentado. Com *Ulva lactuca*, são registadas taxas de crescimento específico de 6-18% dia⁻¹ (Khoi & Fotedar, 2011; Msuya & Neori, 2010; Neori *et al.*, 1991; Robertson-Anderson *et al.*, 2008), enquanto com *Ulva rotundata* de 7,5% dia⁻¹ (Hernández *et al.*, 2005), com *Ulva clathrata* de 12% dia⁻¹ (Copertino *et al.*, 2009), com *Ulva rigida* de 13,8% dia⁻¹ (Jiménez del Río *et al.*, 1996) e com *Ulva ohnoi* de 23,6% dia⁻¹ (Yokohama & Ishihi, 2010).

5.4 Capacidade de Biofiltração das Macroalgas

Apesar de a amónia (NH₄⁺) ser a forma azotada preferencial das macroalgas (Hanisak, 1983; Lobban *et al.* 1985) e das concentrações desta nos tratamentos de co-cultivo terem sido sempre mais baixas relativamente ao monocultivo, não foi demonstrado, no presente trabalho, consumo significativo de NH₄⁺ para as duas espécies. Contudo, a correlação que investigou sobre as relações entre as variáveis ambientais e a biomassa das macroalgas (anexo 8), encontrou uma relação negativa e fortemente significativa ($r_s = -0,760$ $P=0,004$) entre a biomassa da *G. birdiae* e concentração de amónia, demonstrando o seu consumo.

As quantidades disponibilizadas (valores de concentração do monocultivo) foram inferiores a outros trabalhos de biofiltração com os dois géneros (*Gracilaria*: Marinho-

Soriano *et al.*, 2009a, Marinho-Soriano *et al.*, 2009b e Nelson *et al.*, 2001; *Ulva*: Copertino *et al.*, 2009; Khoi & Fotedar, 2011; Msuya *et al.*, 2006). Neles, foram registradas remoções significativas de nutrientes. Assim, é provável que a falta de consumos significativos se deva às baixas quantidades disponibilizadas na globalidade do trabalho. Comparando as duas espécies de macroalgas, a concentração do azoto foi sempre mais baixa no coUF. As espécies do género *Ulva* têm sido descritas como oportunistas devido à morfologia do seu talo e à rápida absorção de nutrientes (Littler & Littler, 1980). Vários autores relataram elevadas taxas de remoção de nutrientes para diferentes espécies de *Ulva*, as quais têm sido avaliadas como potenciais biofiltros para efluentes da aquacultura (Copertino *et al.*, 2009; Neori *et al.*, 2003).

No caso do fósforo inorgânico dissolvido, as duas espécies apresentaram um potencial de remoção bastante modesto ($\approx 3,5\%$). As quantidades disponibilizadas também foram inferiores a outros trabalhos de biofiltração com os dois géneros (*Gracilaria*: Marinho-Soriano *et al.*, 2009a, Marinho-Soriano *et al.*, 2009b e Nelson *et al.*, 2001; *Ulva*: Copertino *et al.*, 2009; Khoi & Fotedar, 2011; Msuya *et al.*, 2006). Com *G. birdiae*, Marinho-Soriano *et al.* (2009b) observaram remoções nitidamente superiores deste nutriente, nos sistemas de co-cultivo. O fósforo é constituinte dos tecidos algais e tem um papel relevante nos processos de transferência de energia (através do ATP), de fotossíntese e de respiração (Lobban *et al.*, 1985). Como já foi descrito, as macroalgas utilizam fósforo, mas este não limita o crescimento das algas, contrariamente ao azoto (Hanisak, 1983). Contudo, deve ser esperado o consumo deste nutriente quando os organismos fotossintéticos se encontram no volume de cultivo. A ocorrência de processos de mineralização de fósforo, realizados por bactérias na água dos de co-cultivos, pode ser outra hipótese para a ausência de remoções significativas.

VI. Conclusão

O grande aumento da procura por produtos de origem aquática e a crescente importância da aquacultura na resposta a essa exigência pedem práticas sustentáveis. A tecnologia de biorremediação de Aquacultura Multitrófica Integrada oferece uma solução sustentável, em termos ambientais, económicos e sociais. Para isso, os produtores devem integrar organismos de diferentes níveis tróficos, tirando partido das suas funções complementares no ecossistema criado pela produção aquícola. A integração dos cultivos de camarão e macroalgas é apresentado como tal, e tem demonstrado um grande potencial de sucesso. De acordo com os resultados obtidos neste estudo, as espécies algais testadas demonstraram ser boas propostas. Foram integradas espécies nativas com bom crescimento, bom potencial de biorremediação, facilidade de cultivo e valor económico.

Foram observados diversos benefícios pela integração do cultivo das macroalgas *Gracilaria birdiae* e *Ulva fasciata* na produção de camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. A *Ulva* beneficiou os parâmetros zootécnicos, uma vez que os animais utilizaram os nutrientes dessa alga, complementando assim a sua alimentação artificial. Pelo fato deste género apresentar boas características nutricionais, nomeadamente elevado teor proteico, e boa palatibilidade para este crustáceo, o co-cultivo coUF demonstra ter um potencial dietético. Podendo a macroalga ser um ingrediente natural na dieta, o co-cultivo é uma alternativa para diminuir a necessidade de alimentação artificial e, consequentemente, os custos associados.

As macroalgas valorizaram os nutrientes residuais disponibilizados pela produção animal, verificando-se, assim, que esses resíduos são uma fonte viável de nutrientes para o desenvolvimento destes organismos fotossintéticos. Elas utilizaram os nutrientes inorgânicos azotados, fato observado pela significativa menor concentração nos volumes de co-cultivo. Este consumo melhora e estabiliza a qualidade do ambiente e diminui a carga de nutrientes presentes nos seus efluentes. Há benefícios para o desenvolvimento do camarão, o impacto ambiental do cultivo é mitigado e os custos com o tratamento dessas águas residuais podem ser reduzidos.

Os dois géneros utilizados no presente trabalho demonstram bons crescimentos e boa capacidade de biofiltração. Contudo, cada um deles evidencia valorizações económicas distintas. O género *Ulva* demonstra ser um ingrediente interessante a introduzir nas dietas de organismos aquáticos (quer seja em fresco ou no *pellet*). Por outro lado, a *Gracilaria*, sendo uma agarófita, detém uma considerável valorização no mercado para a produção do ficolóide ágar.

Ficou demonstrado que estas propostas podem ser sustentáveis ecológica, económica e socialmente, quando aplicadas num cenário comercial. Todos os organismos introduzidos desenvolveram-se durante o período experimental, tendo sido beneficiados mutuamente, quer em termos nutricionais quer em termos ambientais. Os nutrientes provenientes da produção animal foram utilizados, diminuindo assim o seu potencial de impacto ambiental. A diversificação económica, e a eventual diminuição do risco económico associado à produção pelo cultivo de vários organismos aquáticos com valor económico, podem ser alcançadas. Tem aumentado a aceitabilidade social, por parte do consumidor, por produtos oriundos de boas práticas produtivas.

Apesar dos resultados favoráveis, ficam perguntas a serem respondidas com trabalhos futuros. A passagem deste sistema para os viveiros de cultivo de camarão aproximá-lo-ia da escala comercial. Marinho-Soriano *et al.* (2009a) testou, com sucesso, a espécie *Gracilaria caudata*. Outras espécies do género *Gracilaria* também poderão ser alternativas alimentares frescas. Para isso, deverão ser aplicadas, em futuros trabalhos, espécies que se adequem à morfologia alimentar do camarão, e estudados os seus benefícios alimentares e ambientais no co-cultivo. Para melhor compreender e valorizar os benefícios alimentares da *Ulva fasciata*, é favorável a realização de trabalhos que estudem os efeitos do consumo desta espécie na carcaça dos animais.

Referências Bibliográficas

- Abreu, M.L., Varela, D.A., Henríquez, L., Villarroel, A., Yarish, C., Sousa-Pinto, I., Buschmann, A.H. (2009). Traditional vs. integrated multi-trophic aquaculture of *Gracilaria chilensis* C.J. Bird J. McLachlan & E.C. Oliveira: productivity and physiological performance. *Aquaculture* 293, 211–220.
- AlgaeBase (2012a). *Gracilaria birdiae* Palastino & E.C.Oliveira. Acedido em Nov. 29, 2012, disponível em: http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=62160&session=abv4:C188935007ca923480NMor84BDF9
- AlgaeBase (2012b). *Ulva fasciata* Delile. Acedido em Nov. 29, 2012, disponível em: http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=1065&sk=0&from=results
- Armisen, R. (1995). World-wide use and importance of *Gracilaria*. *Journal of Applied Phycology* 7, 231-243.
- Boyd, C.E. (1998). *Water quality for pond aquaculture*. Research and Development Series 43. Auburn, Alabama: International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, Auburn University.
- Briggs, M.R.P., Funge-Smith, S.J. (1996). The potential use of *Gracilaria* spp. meal for diets for juvenile *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquaculture Research* 27, 345-354.
- Buschmann, A.H., Hernández-González, M.C., Aranda, C., Chopin, T., Neori, A., Halling, C., Troell, M. (2008). Mariculture Waste Management. In: Jørgensen, S.E., Fath, B.D. (Eds.), *The Encyclopedia of Ecology, Ecological Engineering*, vol. 3. Elsevier, Oxford, 2211–2216.
- Chirapart, A., Lewmanomont, K. (2004). Growth and production of Thai agarophyte cultured in natural pond using the effluent seawater from shrimp culture. *Hydrobiologia* 512, 117–126.
- Chopin, T., Yarish, C., Wilkes, R., Belyea, E., Lu, S., Mathieson, A. (1999). Developing *Porphyra*/salmon integrated aquaculture for bioremediation and diversification of the aquaculture industry. *Journal of Applied Phycology* 11, 463–472.
- Chopin, T., Buschmann, A.H., Halling, C., Troell, M., Kautsky, N., Neori, A., Kraemer, G.P., Zertuche-Gonzalez, J.A., Yarish, C., Neefus, C. (2001). Integrating seaweeds into marine aquaculture systems: a key towards sustainability. *Journal of Phycology* 37, 975–986.

- Chopin, T., Robinson, S.M.C., Troell, M., Neori, A., Buschmann, A.H., Fang, J. (2008). Multitrophic integration for sustainable marine aquaculture. In: Jørgensen, S.E., Fath, B.D. (Eds.), *The Encyclopedia of Ecology, Ecological Engineering*, vol. 3. Elsevier, Oxford, 2463–2475.
- Copertino, M.S., Tormena, T., Seeliger, U. (2009). Biofiltering efficiency, uptake and assimilation rates of *Ulva clathrata* (Roth) J. Agardh (Clorophyceae) cultivated in shrimp aquaculture waste water. *Journal of Applied Phycology* 21, 31–45.
- Cruz-Suárez, L.E., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Ricque-Marie, D. (2008). A review of the effects of macroalgae in shrimp feeds and in co-culture. *Avances en Nutrición Acuicola IX, IX Simposio Internacional de Nutrición Acuicola*, México, 304-333.
- Cruz-Suárez, L.E., Tapia-Salazar, M., Nieto-Lopez, M.G., Guajardo-Barbosa, C., Ricque-Marie, D. (2009). Comparison of *Ulva clathrata* and the kelps *Macrocystis pyrifera* and *Ascophyllum nodosum* as ingredients in shrimp feeds. *Aquaculture Nutrition* 15, 421–430.
- Cruz-Suárez, L.E., León, A., Peña-Rodríguez A., Rodríguez-Peña, G., Moll, B., Ricque-Marie, D. (2010). Shrimp/*Ulva* co-culture: A sustainable alternative to diminish the need for artificial feed and improve shrimp quality. *Aquaculture* 301, 64-68.
- Da Silva, R.L., Barbosa, J.M. (2009). Seaweed meal as a protein source for the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Applied Phycology* 21, 193–197.
- Diaz, R.J., Rosenberg, R. (1995). Marine benthic hypoxia: A review of its ecological effects and the behavioural responses of benthic macrofauna. *Oceanography and Marine Biology Annual Review* 33, 245-303.
- Folke, C., Kaustsky, N., Berg, H., Jansson, A., Troell, M. (1998). The ecological footprint concept for sustainable seafood production: a review. *Ecological Applications* 8 (Supplement): 63-71.
- Food And Agriculture Organization Of The United Nations (2003). *A guide to the seaweed industry*. FAO Fisheries Technical Paper 441, Rome: FAO.
- Food And Agriculture Organization Of The United Nations (2012). *The state of world fisheries and aquaculture – 2012 (SOFIA)*. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome: FAO.

- Food And Agriculture Organization Of The United Nations (2013). *Cultured Aquatic Species Information Programme, Penaeus vannamei* (Boone, 1931). Acedido em Jul. 26, 2013, disponível em: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/en
- Hanisak, M. D. (1983). The nitrogen relationships of marine macroalgae. In: E. J. Carpenter & D. G. Capone (Eds.), *Nitrogen in the Marine Environment*. Academic Press, New York: 699–730.
- Hernández, I., Fernández-Engo, M.A., Pérez-Lloréns, J.L., Vergara, J.J. (2005). Integrated outdoor culture of two estuarine macroalgae as biofilters for dissolved nutrients from *Sparus aurata* waste waters. *Journal of Applied Phycology* 17, 557–567.
- Hernández-López, J., Vargas-Albores, F. (2003). A microplate technique to quantify nutrients (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ and PO_4^{3-}) in seawater. *Aquaculture Research* 34, 1201-1204.
- Jiménez del Rio, M, Ramazanov, Z., Reina, G.G. (1996) *Ulva rigida* (Ulvales, Chlorophyta) tank culture as biofilters for dissolved inorganic nitrogen from fishpond effluents. *Hydrobiologia* 326-327, 61-66.
- Khoi, L.V., Fotedar, R. (2011). Integration of western king prawn (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896) and green seaweed (*Ulva lactuca* Linnaeus, 1753) in a closed recirculating aquaculture system. *Aquaculture* 322-323, 201-209.
- Lin, Y., Chen, J. (2003). Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture* 224, 193-201.
- Littler, M.M. (1980). Morphological form and photosynthetic performances of marine macroalgae: test of a functional form hypothesis. *Botanica Marina* 22,161-165.
- Littler, M.M., Littler, D.S. (1980). The evolution of thallus form and survival strategies in benthic marine macroalgae: field and laboratory tests of a functional form model. *American Naturalist* 116, 25-44.
- Lobban, C.S., Harrison, P.J., Duncan, M.J. (1985). *Physiological ecology of seaweeds*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Marinho-Soriano, E. (2001). Agar polysaccharides from *Gracilaria* species (Rhodophyta, Gracilariaceae). *Journal of Biotechnology* 89, 81–84.

- Marinho-Soriano, E., Morales, C., Moreira, W.S.C. (2002). Cultivation of *Gracilaria* (Rhodophyta) in shrimp pond effluents in Brazil. *Aquaculture Research* 33 (13), 1081–1086.
- Marinho-Soriano, E., Bourret, E. (2003). Effects of season on the yield and quality of agar from *Gracilaria* species (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Bioresource Technology* 90, 329–333.
- Marinho-Soriano, E., Bourret, E. (2005). Polysaccharides from the red seaweed *Gracilaria dura* (Gracilariales, Rhodophyta). *Bioresource Technology* 96, 379–382.
- Marinho-Soriano, E., Camara, M.R., Cabral, T.M., Carneiro, M.A.A. (2007). Preliminary evaluation of the seaweed *Gracilaria cervicornis* (Rhodophyta) as a partial substitute for the industrial feeds used in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) farming. *Aquaculture Research* 38, 182-187.
- Marinho-Soriano, E., Panucci, R.A., Carneiro, M.A.A., Pereira, D.C. (2009a). Evaluation of *Gracilaria caudata* J. Agardh for bioremediation of nutrients from shrimp farming wastewater. *Bioresource Technology* 100, 6192-6198.
- Marinho-Soriano, E., Nunes, S.O., Carneiro, M.A.A., Pereira, D.C. (2009b). Nutrients' removal from aquaculture wastewater using the macroalgae *Gracilaria birdiae*. *Biomass and Bioenergy* 33, 327-331.
- Martínez, A., Buschmann, A.H. (1996). Agar yield and quality of *Gracilaria chilensis* (Gigartinales, Rhodophyta) in tank culture using fish effluents. *Hydrobiologia* 326 (327), 341–345.
- Ministério da Pesca e da Aquicultura do Governo Federal Brasileiro (2012). *Plano Safra da Pesca e Aquicultura*. Acedido em Nov. 29, 2012, disponível em: <http://www.mpa.gov.br/index.php/safradocs>
- Msuya, F.E., Neori, A. (2002). *Ulva reticulata* and *Gracilaria crassa*: Macroalgae That Can Biofilter Effluent from Tidal Fishponds in Tanzania. *Western Indian Ocean Journal Marine Science* 1 (2), 117–126.
- Msuya, F.E., Kyewalyanga, M.S., Salum, D. (2006). The performance of the seaweed *Ulva reticulata* as a biofilter in a low-tech, low-cost, gravity generated water flow regime in Zanzibar, Tanzania. *Aquaculture* 254, 284–292.

- Msuya, F.E., Neori, A. (2010). The performance of spray-irrigated *Ulva lactuca* (Ulvophyceae, Chlorophyta) as a crop and as a biofilter of fishpond effluents. *Journal of Phycology* 46, 813–817.
- Mustafa, M.G., Wakamatsu, S., Takeda, T., Umino, T. & Nakagawa, H. (1995). Effects of algae meal as feed additive on growth, feed efficiency, and body composition in red sea bream. *Fisheries Science* 61, 25-28.
- Nakagawa, H., Nematipour, G.R., Yamamoto, M., Sugiyama, T., Kusaka, K. (1993). Optimum level of *Ulva* meal diet supplement to minimize weight loss during wintering in black sea bream *Acanthopagrus schlegeli* (Bleeker). *Asian Fisheries Science* 6, 139-148.
- Nelson, S.G., Glenn, E.P., Conn, J., Moore, D., Walsh, T., Akutagawa, M. (2001). Cultivation of *Gracilaria parlispora* (Rhodophyta) in shrimp-farm effluent ditches and floating cages in Hawaii: a two-phase polyculture system. *Aquaculture* 193, 239-248.
- Neori, A., Cohen, I., Gordin, H. (1991). *Ulva lactuca* biofilters for marine fishpond effluents: II. growth rate, yield and C:N ratio. *Botanica Marina* 34, 483–489.
- Neori, A., Krom, M.D., Ellner, S.P., Boyd, C.E., Popper, D., Rabinovitch R., Davison, P.J., Dvir, O., Zuber, D., Ucko, M., Angel, D., Gordin, H. (1996). Seaweed biofilters as regulators of water quality in integrated fish-seaweed culture units. *Aquaculture* 141, 183- 199.
- Neori, A., Shpigel, M., Ben-Ezra, D. (2000). A sustainable integrated system for culture of fish, seaweed and abalone. *Aquaculture* 186, 279-291.
- Neori, A., Msuya, F.E., Shauli, L., Schuenhoff, A., Kopel, F., Shpigel, M. (2003). A novel three-stage seaweed (*Ulva lactuca*) biofilter design for integrated mariculture. *Journal of Applied Phycology* 15, 543– 553.
- Neori, A., Chopin, T., Troell, M., Buschmann, A., Kraemer, G.P., Halling, C., Shpigel, M., Yarish, C. (2004). Integrated aquaculture: rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. *Aquaculture* 231, 361–391.
- Neori, A., Troell, M., Chopin, T., Yarish, C., Critchley, A., Buschmann, A.H. (2007). The need for a balanced ecosystem approach to blue revolution aquaculture. *Environment* 49, (3): 37-44.

- Norziah, M.H., Ching, C.Y. (2000). Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*. *Food Chemistry* 68, 69-76.
- Ortiz, J., Romero, N., Robert, P., Araya, J., Lopez-Hernández, J., Bozzo, C., Navarrete, E., Osorio, A., Rios A. (2006). Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chemistry* 99, 98–104.
- Oyieke, H.A. (1986). The effect of marine green algae, *Ulva* sp. As a compost manure on the yield of maize (var. coast composite). *Kenya Aquatica* 3, 72-75. Mombasa: Kenya Marine and Fisheries Research Institute,
- Pádua, M., Fontoura, P.S.G., Mathias, A.L. (2004). Chemical composition of *Ulvaria oxysperma* (Kützinger) bliding, *Ulva lactuca* (Linnaeus) and *Ulva fasciata* (Delile). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47 (1), 49-55.
- Peñaflorida, V.D., Golez, N.V. (1996). Use of seaweed meals from *Kappaphycus alvarezii* and *Gracilaria heteroclada* as binders in diets for juvenile shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 143, 393-401.
- Pereira, R., Yarish, C. (2008). Mass production of marine macroalgae. In: Jørgensen, S.E., Fath, B.D. (Eds.), *The Encyclopedia of Ecology, Ecological Engineering*, vol. 3. Elsevier, Oxford, 2236–2247.
- Plastino, E.M., Oliveira, E.C. (2002). *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta), a new species from the Tropical South American Atlantic with a terete frond and deep spermatangial conceptacles. *Phycologia* 41, 389-396.
- Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios, C.A., Ross, L.G. (1997). The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture* 157, 107-115.
- Porchas-Cornejo, M.A., Córdova, L.M., Magallón-Barajas, F., Páramo, J.N., Portillo-Clark, G. (1999). Efecto de la macroalga *Caulerpa sertularioides* en el desarrollo del camarón *Penaeus californiensis* (Decapoda: Penaeidae). *Revista de Biología Tropical* 47 (3).
- Portillo-Clark, G., Casillas-Hernández, R., Servín-Villegas, R., Magallón-Barajas, F. (2012). Growth and survival of the juvenile yellowleg shrimp *Farfantepenaeus californiensis* cohabiting with the green feather alga *Caulerpa sertularioides* at different temperatures. *Aquaculture Research* 1-9.

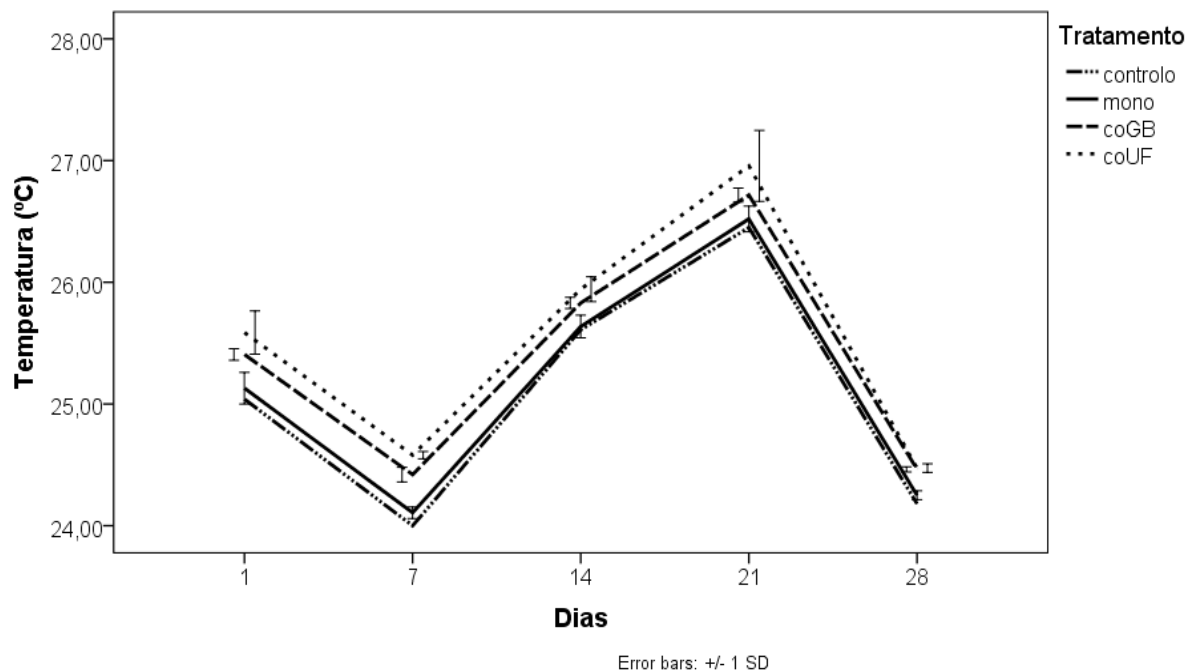
- Primavera, H.J. (1993). A critical review of shrimp pond culture in the Philippines. *Reviews in Fisheries Science* 1, 151– 201.
- Racotta, I.S., Hernández-Herrera, R. (2000). Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 125, 437–443.
- Rajendran, N., Kathiresan, K. (1997). Effect of effluent from a shrimp pond on shoot biomass of mangrove seedlings. *Aquaculture Research* 27, 745–747.
- Ren, J.F., Stenton-Dozey, J., Plew, D.R., Fang, J., Gall, M. (2012). An ecosystem model for optimising production in integrated multitrophic aquaculture systems. *Ecological Modelling* 246, 34-46.
- Robertson-Andersson, D.V., Potgieter, M., Hansen, J. Bolton, J.J., Troell, M., Anderson, R.J., Halling, C. and Probyn, T. (2008). Integrated seaweed cultivation on an abalone farm in South Africa. *Journal of Applied Phycology* 20 (5), 129-146.
- Sogard, S.M., Able, K.W. (1991). A comparison of eelgrass, sea lettuce macroalgae, and marsh creeks as habitats for epibenthic fishes and decapods. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 33, 501-519.
- Sridhar, S., Rengasamy, R. (2011). Potencial of seaweed liquid fertilizers (SLFS) on some agricultural crop with special reference to protein profile of seedlings. *International Journal of Development Research* 1 (7), 55-57.
- Sridhar, S., Rengasamy, R. (2012). The effects of seaweed liquid fertilizer of *Ulva lactuca* on *Capsicum annum*. *Algological Studies* 138, 75-88.
- Strickland, J.D.H., Parsons, T. R. (1972). *A practical handbook of seawater analysis*. (2nd ed.). Ottawa: Fisheries Research Board of Canada.
- Tacon, A.G.J., Rausin, N., Kadari, M. & Cornelis, P. (1990). The food and feeding of marine finfish in floating net cages at the National Seafarming Development Centre, Lampung, Indonesia: rabbitfish, *Siganus canaliculatus* (Park). *Aquaculture and Fisheries Management*. 21, 375-390.
- Troell, M., Halling, C., Nilsson, A., Buschmann, A.H., Kautsky, N., Kautsky, L. (1997). Integrated marine cultivation of *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta) and salmon cages for reduced environmental impact and increased economic output. *Aquaculture* 156, 45–61.

- Troell, M., Rönnbäck, P., Halling, C., Kautsky, N., Buschmann, A. (1999). Ecological engineering in aquaculture: use of seaweeds for removing nutrients from intensive mariculture. *Journal of Applied Phycology* 11, 89–97.
- Troell, M., Halling, C., Neori, A., Buschmann, A.H., Chopin, T., Yarish, C., Kautsky, N. (2003). Integrated mariculture: asking the right questions. *Aquaculture* 226, 69–90.
- Tsai, S., Chen, J. (2002). Acute toxicity of nitrate on *Penaeus monodon* juveniles at different salinity levels. *Aquaculture* 213, 163–170.
- Tsutsui, I., Kanjanaworakul, P., Srisapoome, P., Aue-umneoy, D., Hamano, K. (2010). Growth of giant tiger prawn, *Penaeus monodon* Fabricius, under co-culture with a discarded filamentous seaweed, *Chaetomorpha ligustica* (Kutzing) Kutzing, at an aquarium-scale. *Aquaculture International* 18, 545-553.
- Valente, L.M.P., Gouveia, A., Rema, P., Matos, J., Gomes, E.F., Pinto, I.S. (2006). Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 252, 85-91.
- Ventura, M.R., Castañón, J.I.R. (1998). The nutritive value of seaweed (*Ulva lactuca*) for goats. *Small Ruminant Research* 29, 325-327.
- Xu, Y., Fang, J., Wei, W. (2008a). Application of *Gracilaria lichenoides* (Rhodophyta) for alleviating excess nutrients in aquaculture. *Journal of Applied Phycology* 20, 199–203.
- Xu, Y., Fang, J., Tang, Q., Lin, J., Le, G., Liao, L. (2008). Improvement of water quality by the macroalga *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) near Aquaculture Effluent Outlets. *Journal of the World Aquaculture Society* 39 (4), 549-555.
- Yokoyama, H., Ishihi, Y. (2010). Bioindicator and biofilter function of *Ulva* spp. (Chlorophyta) for dissolved inorganic nitrogen discharged from a coastal fish farm — potential role in integrated multi-trophic aquaculture. *Aquaculture* 310, 74-83.
- Zaidi, B.R., Imam, S.H. (2008). Biodegradability. In: Jørgensen, S.E., Fath, B.D. (Eds.), *The Encyclopedia of Ecology, Ecological Engineering*, vol. 3. Elsevier, Oxford, 357–366.
- Zhang, P., Zhang, X., Li, J., Huang, G. (2006). The effects of body weight, temperature, salinity, pH, light intensity and feeding condition on lethal DO levels of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture* 256, 579–587.

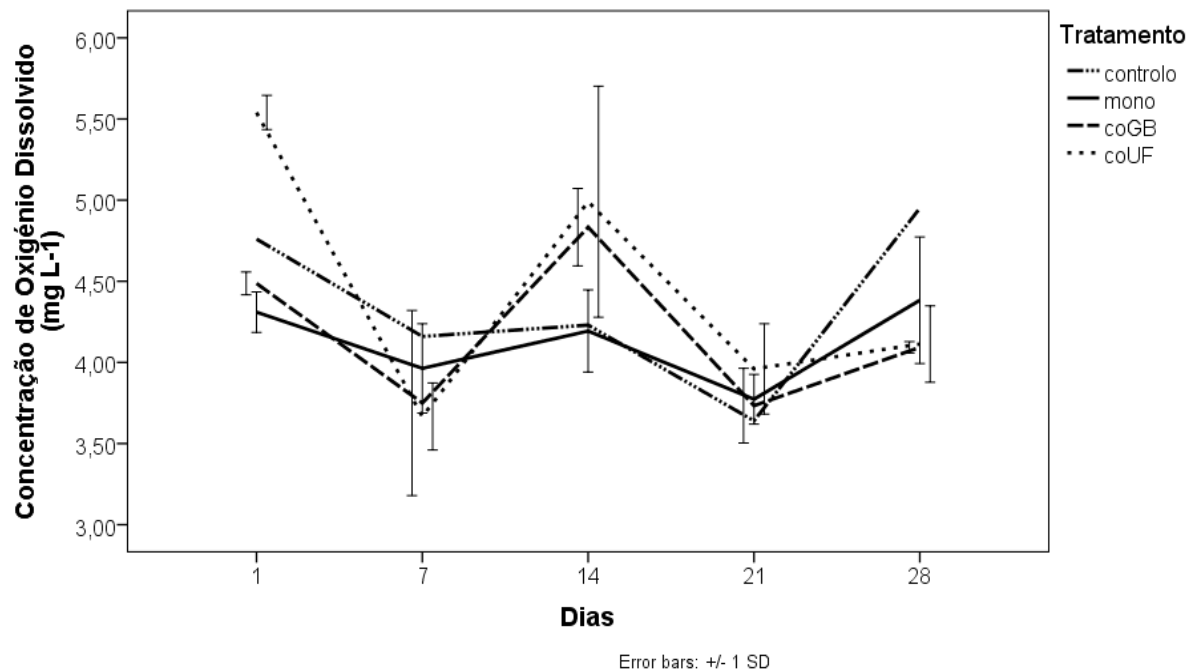
Zhou, Y., Yang, H., Hu, H., Liu, Y., Mao, Y., Zhou, H., Xu, X., Zhang, F. (2006). Bioremediation potential of the macroalga *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) integrated into fed fish culture in coastal waters of north China. *Aquaculture* 252, 264–276.

Anexos

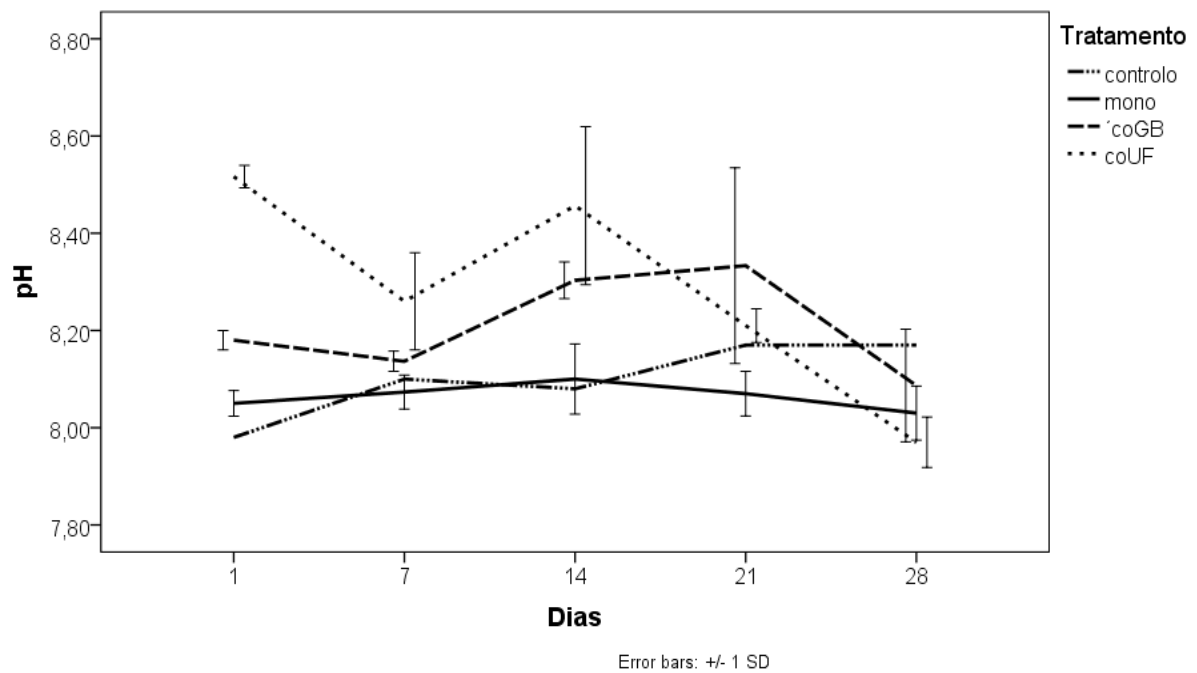
Anexo 1 - Variação da temperatura (°C) no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.



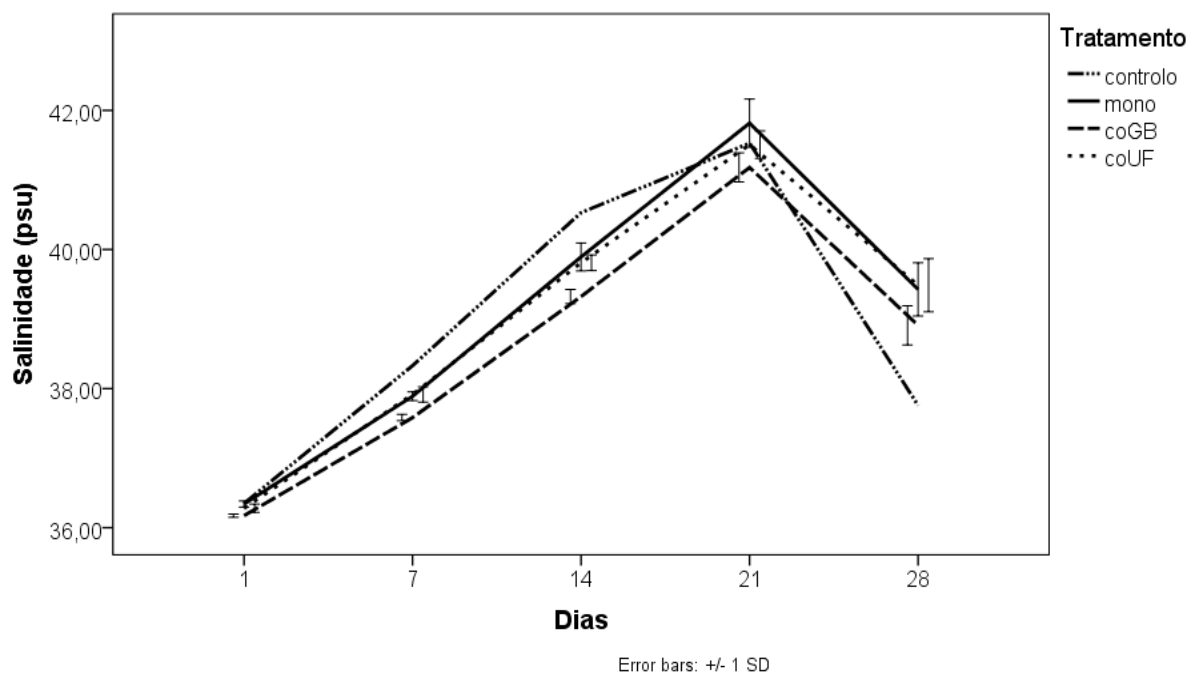
Anexo 2 - Variação da concentração de oxigénio dissolvido (mg L⁻¹) no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.



Anexo 3 - Variação do pH no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.



Anexo 4 - Variação da salinidade (psu) no controlo e nos tratamentos mono, coGB e coUF, ao longo do período experimental.



Anexo 5

Valores médios (\pm DP), mínimos e máximos para as eficiências de absorção de nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) e azoto inorgânico dissolvido (NID = nitrito + nitrato + amónia total) das macroalgas *Gracilaria birdiae* e *Ulva fasciata*, ao longo do trabalho experimental (n=24).

		NO_2^- (%)	NO_3^- (%)	NID (%)
G. birdiae	Média (\pm DP)	93 \pm 7a	97 \pm 3	67 \pm 32
	Min – Máx	83 – 100	92 – 100	2 – 98
U. fasciata	Média (\pm DP)	97 \pm 4b	94 \pm 15	65 \pm 47
	Min – Máx	90 – 100	47 – 100	- 49 – 99
Estatística do teste	Teste	U = 38,000 (Mann-Whitney)	U = 58,000 (Mann-Whitney)	U = 62,500 (Mann-Whitney)
	P value	0,048	0,405	0,583

Valores apresentados como *média \pm DP, mínimo - máximo*. A estatística do teste refere-se ao teste que aferiu sobre a igualdade entre todos os tratamentos, para a respetiva variável. Os sobrescritos na mesma coluna indicam subconjuntos homogêneos, de acordo com o teste a 2 amostras independentes aplicado ($\alpha=0,05$).

Eficiência de absorção = [(C mono – coGB ou C coUF) / C mono] x 100

Anexo 6

Valores médios (\pm DP), mínimos e máximos para as quantidades absorvidas de nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) e azoto inorgânico dissolvido (NID = nitrito + nitrato + amónia total) pelas macroalgas *Gracilaria birdiae* e *Ulva fasciata*, ao longo do trabalho experimental (n=24).

		NO_2^- (mg L ⁻¹)	NO_3^- (mg L ⁻¹)	NID (mg L ⁻¹)
G. birdiae	Média (\pm DP)	0,032 \pm 0,027	0,728 \pm 1,030	0,831 \pm 1,033
	Min – Máx	0,01 – 0,08	0,12 – 2,45	0,01 – 2,56
U. fasciata	Média (\pm DP)	0,034 \pm 0,030	0,745 \pm 1,074	0,843 \pm 1,111
	Min – Máx	0,02 – 0,08	0,07 – 2,55	- 0,27 – 2,67
Estatística do teste	Teste	U = 61,000 (Mann-Whitney)	U = 71,500 (Mann-Whitney)	U = 69,000 (Mann-Whitney)
	P value	0,521	0,977	0,862

Quantidade absorvida = C mono – C coGB ou C coUF

Anexo 7

Correlação não-paramétrica de Spearman (n=12) entre a biomassa dos camarões (Pc) e a biomassa das macroalgas (Pm), para os tratamentos coGB e coUF.

		Pc (coGB)	Pc (coUF)
Pm (coGB)	Teste (r_s)	0,783**	-
	P value	0,003	-
Pm (coUF)	Teste (r_s)	-	- 0,608*
	P value	-	0,036

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; Valores apresentados como *correlação de Spearman, P-value*.

Avaliação do desempenho do camarão *Litopenaeus vannamei* e
das macroalgas *Gracilaria birdiae* e *Ulva fasciata* num sistema de cultivo multitrófico integrado

Anexo 8

Correlação não-paramétrica de Spearman (n=12) entre as variáveis ambientais (temperatura, pH, oxigénio dissolvido, salinidade, amónia total, nitrito, nitrato, azoto inorgânico dissolvido e fósforo inorgânico dissolvido) e a taxa de crescimento específico dos camarões (TCEc), a biomassa dos camarões (Pc), a taxa de crescimento específico das macroalgas (TCEm) e a biomassa das macroalgas (Pm), para cada um dos tratamentos. Os valores confrontados correspondem à medições semanais.

		Temperatura	pH	O ₂ D	Salinidade	Amónia Total	Nitrito	Nitrato	NID	PID
TCEc (mono)	Teste (<i>r_s</i>)	- 0,420	0,189	- 0,137	- 0,342	0,448	- 0,669*	- 0,396	- 0,116	0,444
	<i>P</i> value	0,174	0,556	0,672	0,276	0,144	0,017	0,203	0,721	0,148
TCEc (coGB)	Teste (<i>r_s</i>)	- 0,119	0,028	- 0,161	- 0,350	0,708*	0,018	- 0,676*	0,517	- 0,078
	<i>P</i> value	0,712	0,931	0,618	0,265	0,010	0,956	0,016	0,085	0,811
TCEc (coUF)	Teste (<i>r_s</i>)	0,186	0,678*	- 0,319	- 0,501	0,872**	0,470	- 0,247	0,844**	0,093
	<i>P</i> value	0,564	0,015	0,313	0,097	<0,001	0,123	0,439	0,001	0,774
Pc (mono)	Teste (<i>r_s</i>)	0,375	- 0,244	0,004	0,261	- 0,140	0,125	0,287	0,651*	0,155
	<i>P</i> value	0,230	0,445	0,991	0,412	0,664	0,699	0,365	0,022	0,630
Pc (coGB)	Teste (<i>r_s</i>)	0,543	- 0,077	- 0,133	0,643*	- 0,658*	- 0,235	0,388	- 0,664*	0,310
	<i>P</i> value	0,068	0,812	0,681	0,024	0,020	0,462	0,213	0,018	0,326
Pc (coUF)	Teste (<i>r_s</i>)	- 0,210	- 0,502	0,063	0,245	- 0,287	- 0,305	0,500	- 0,196	- 0,036
	<i>P</i> value	0,513	0,096	0,846	0,443	0,366	0,334	0,098	0,542	0,913
TCEm (<i>G. birdiae</i>)	Teste (<i>r_s</i>)	- 0,270	- 0,172	0,350	- 0,063	0,116	0,384	- 0,199	0,126	- 0,018
	<i>P</i> value	0,397	0,594	0,265	0,846	0,721	0,217	0,535	0,697	0,957
TCEm (<i>U. fasciata</i>)	Teste (<i>r_s</i>)	- 0,014	0,316	0,559	- 0,077	0,133	0,063	- 0,352	0,035	- 0,249
	<i>P</i> value	0,966	0,317	0,059	0,812	0,681	0,845	0,262	0,914	0,435
Pm (<i>G. birdiae</i>)	Teste (<i>r_s</i>)	0,221	- 0,210	0,056	0,399	- 0,760**	0,064	0,687*	- 0,622*	0,310
	<i>P</i> value	0,491	0,512	0,863	0,199	0,004	0,843	0,014	0,031	0,326
Pm (<i>U. fasciata</i>)	Teste (<i>r_s</i>)	0,007	0,351	0,601*	- 0,056	0,147	0,034	- 0,310	0,049	- 0,303
	<i>P</i> value	0,983	0,263	0,039	0,863	0,649	0,918	0,327	0,880	0,339

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; O₂D = concentração de oxigénio dissolvido; NID = concentração de azoto inorgânico dissolvido; PID = concentração de fósforo inorgânico dissolvido.

Avaliação do desempenho do camarão *Litopenaeus vannamei* e
das macroalgas *Gracilaria birdiae* e *Ulva fasciata* num sistema de cultivo multitrófico integrado

Anexo 9

Correlação não-paramétrica de Spearman (n=50) entre as variáveis ambientais (temperatura, pH, oxigénio dissolvido, salinidade, amónia total, nitrito, nitrato, azoto inorgânico dissolvido e fósforo inorgânico dissolvido). Os valores confrontados correspondem às medições semanais.

		pH	O ₂ D	Salinidade	Amónia Total	Nitrito	Nitrato	NID	PID
Temperatura	Teste (r_s)	0,481**	- 0,333	0,569**	- 0,241	- 0,394**	- 0,353*	- 0,405**	- 0,401**
	P value	<0,001	0,820	<0,001	0,091	0,005	0,012	0,004	0,004
pH	Teste (r_s)		0,287*	- 0,014	- 0,071	- 0,431**	- 0,432**	- 0,171	- 0,255
	P value		0,043	0,924	0,626	0,002	0,002	0,234	0,074
O ₂ D	Teste (r_s)			- 0,366**	- 0,215	0,110	0,065	- 0,149	- 0,269
	P value			0,009	0,134	0,446	0,652	0,302	0,059
Salinidade	Teste (r_s)				0,049	- 0,287*	- 0,146	0,041	- 0,498**
	P value				0,733	0,043	0,311	0,777	<0,001
Amónia Total	Teste (r_s)					0,070	- 0,160	0,810**	0,053
	P value					0,629	0,268	<0,001	0,717
Nitrito	Teste (r_s)						0,796**	0,384**	0,177
	P value						<0,001	0,006	0,220
Nitrato	Teste (r_s)							0,260	- 0,074
	P value							0,068	0,609
NID	Teste (r_s)								- 0,037
	P value								0,800

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; O₂D = concentração de oxigénio dissolvido; NID = concentração de azoto inorgânico dissolvido; PID = concentração de fósforo inorgânico dissolvido.

Anexo 10

Poster apresentado no congresso Aquaculture Europe 2013, o qual decorreu na cidade de Trondheim (Noruega) entre os dias 9 e 12 de Agosto.



Performance of Shrimp *Litopenaeus vannamei* and Seaweeds *Gracilaria birdiae* and *Ulva fasciata* in an Integrated Multi-Trophic Aquaculture System

D. Raposo^{a*}, S.R. Oliveira^b, F. Afonso^c, M.R. Câmara^b, F.O. Fernandes^b, E. Marinho-Soriano^b

^aUniversidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa (Portugal)

^bUniversidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Oceanografia e Limnologia (DOL-UFRN), Via Costeira, Praia de Mãe Luiza, s/n, Natal 59014-100, RN (Brazil)

^cCentro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA), Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa (Portugal)

E-mail: diogomtraposo@gmail.com



Poster Presentation at Aquaculture Europe 2013 (August 9-12; Trondheim, Norway)

Introduction

The global aquaculture is dominated by high trophic-level species (finfishes) and shrimps, representing more than 50% of the production (FAO, 2012), and the monoculture is spatially and managerially often the norm. These practices need large inputs and produce large outputs. Only 25% of the nutrients input are used by the fed species. So, the residues management is a crucial issue (Buschmann *et al.*, 2008). Taking advantages from the complementary functions of the organisms in the ecosystem, the Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA) combines, in the appropriate proportion, the cultivation of fed aquaculture species and extractive aquaculture species (e.g. seaweeds). The wastes of fed animals (mainly, non-consumed feed and excreta) - rich in nitrogen and phosphorus - are suitable nutritional resources for the extractive plants, converting them into valuable biomass and offering mutual benefits for the cultured organisms. The efficiency, productivity and profitability of the farm are improved. This management concept has been proposed for the mitigation of environmental effects, economic diversification and social acceptability (Chopin *et al.*, 2008; Troell *et al.*, 2003). The present study, developed in the Rio Grande do Norte State (Brazil), was carried out to evaluate the potential benefits of the shrimp/ seaweeds co-culture for the organisms integrated.

Materials and Methods

The performances of juvenile shrimps *Litopenaeus vannamei* and native seaweeds *Gracilaria birdiae* and *Ulva fasciata* were evaluated, in an IMTA experimental system. The organisms were cultured in nine outdoor tanks (100L) filled with filtered seawater and with constant air supply, during four weeks. A tenth tank, only with water, served as control. Three treatments - in triplicate - were tested: shrimp monoculture (mono), co-culture with *Gracilaria birdiae* (coGB) and co-culture with *Ulva fasciata* (coUF). Five shrimps (2.78g \pm 0.29 initial weight) were introduced in each experimental unit, and 100g of seaweeds in each co-culture. All experimental groups were fed with a commercial pellet (35% crude protein, 10% crude fat), at a daily ration of 5% shrimp biomass. Dissolved oxygen concentration, temperature, pH, salinity, nutrients dissolved (NH_4^+ , NO_2^- and PO_4^{3-}) and shrimp and seaweed biomass were measured weekly.

Results and Discussion

The average temperatures, dissolved oxygen concentration, salinity and pH were 25.34°C \pm 0.92, 4.25mg L⁻¹ \pm 0.58, 38.90psu \pm 1.81 and 8.12 \pm 0.17, respectively. The pH value showed significant differences ($P=0.001$), being higher in co-cultures by the presence of seaweeds.

The shrimp zootechnical parameters showed significantly higher in the treatment coUF ($P<0.01$; table 1). Additionally, cuts on *Ulva* structures (figure 1), green colour of the faeces and the digestive tract from coUF shrimps and negative correlation between the *Ulva* biomass and the coUF shrimps biomass ($r_s=-0.608$, $P=0.036$) suggested the ingestion of *Ulva fasciata* by the shrimps. This co-culture improved the specific growth rate in 40% and allowed the saving of 1 gram of feed per gram of weight gain, comparing with mono. Other experimental shrimp/seaweeds co-cultures demonstrated the palatability of fresh green seaweeds (Cruz-Suarez *et al.*, 2010; Tsutsui *et al.*, 2010). According to the literature, the shrimp growth seems not affected by the environmental parameters measured. The survival was 100% in all treatments.

Table 1 - Averages (\pm SD) for initial weight (IW), final weight (FW), specific growth rate (SGR), weight gain (WG) and artificial feed conversion rate (aFCR) of juvenile shrimps (n=45).

	IW (g)	FW (g)	SGR (% d ⁻¹)	WG (%)	aFCR
mono	2.80 \pm 0.40	4.10 \pm 0.49a	1.37 \pm 0.49a	47.97 \pm 20.25a	3.50 \pm 1.54a
coGB	2.85 \pm 0.23	4.10 \pm 0.37a	1.29 \pm 0.37a	44.46 \pm 14.98a	3.78 \pm 1.88a
coUF	2.68 \pm 0.19	4.53 \pm 0.36b	1.88 \pm 0.29b	69.85 \pm 13.86b	2.44 \pm 0.46b
P value	0.242	0.007	<0.001	<0.001	0.005

The *Gracilaria birdiae* grew constantly over the four weeks, showing a 1.13% d⁻¹ \pm 0.12 specific growth rate. In the other hand, the *Ulva fasciata* didn't show a significant growth with wide variation of its biomass (0.19% d⁻¹ \pm 0.88), justified by its consumption.

The two seaweeds significantly removed the nitrite (NO_2^-) and nitrate (NO_3^-) from the water ($P<0.001$). The concentrations of those two nutrients were always lower in co-cultures (0.005mg L⁻¹ \pm 0.006 NO_2^- and 0.044mg L⁻¹ \pm 0.055 NO_3^-), comparing with mono (0.031mg L⁻¹ \pm 0.031 and 0.633mg L⁻¹ \pm 0.996, respectively). High removal efficiencies were observed - 95% for the two species and for the two nutrients. No significant removal was observed for ammonia and dissolved inorganic phosphorus concentrations (0.163mg L⁻¹ \pm 0.200 and 0.035mg L⁻¹ \pm 0.025, respectively). High biofiltration capacity is reported for different *Gracilaria* and *Ulva* species, which are frequently evaluated as biofilters for aquaculture effluents (Neori *et al.*, 2003; Marinho-Soriano *et al.*, 2009).



Figure 1 - Seaweeds *Gracilaria birdiae* (A) and *Ulva fasciata* (B) at the final of the study.

Conclusion

The present study observed mutual benefits between the organisms incorporated. The two seaweeds used the residual nutrients from animal production - dissolved inorganic nitrogen - for their growth, increasing the quality of the cultivation environment and decreasing the quantity of nutrients in the effluents. Furthermore, the seaweed *Ulva fasciata* complemented the shrimp nutrition.

References

- Buschmann, A.H., M.C. Hernández-González, C. Aranda, T. Chopin, A. Neori, C. Halling and M. Troell. 2008. Mariculture Waste Management. In: Jørgensen, S.E., Fath, B.D. (Eds.), *The Encyclopedia of Ecology, Ecological Engineering*, vol. 3. Elsevier, Oxford, 2211-2216.
- Chopin, T., S.M.C. Robinson, M. Troell, A. Neori, A.H. Buschmann, J. Fang. 2008. Multitrophic integration for sustainable marine aquaculture. In: Jørgensen, S.E., Fath, B.D. (Eds.), *The Encyclopedia of Ecology, Ecological Engineering*, vol. 3. Elsevier, Oxford, 2463-2475.
- Cruz-Suarez, L.E., A. León, A. Peña-Rodríguez, G. Rodríguez-Peña, B. Moll, D. Rique-Marie. 2010. Shrimp/ulva co-culture: A sustainable alternative to diminish the need for artificial feed and improve shrimp quality. *Aquaculture* 301, 64-68.
- Food And Agriculture Organization Of The United Nations. 2012. *The state of world fisheries and aquaculture - 2012* (SOFIA). FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome: FAO.
- Marinho-Soriano, E., S.O. Nunes, M.A.A. Carneiro, D.C. Pereira. 2009a. Nutrients' removal from aquaculture wastewater using the macroalgae *Gracilaria birdiae*. *Biomass and Bioenergy* 33, 327-331.
- Neori, A., F.E. Msuya, L. Shauli, A. Schuenhoff, F. Kopel, M. Shpigiel. 2003. A novel three-stage seaweed (*Ulva lactuca*) biofilter design for integrated mariculture. *Journal of Applied Physiology* 15, 543- 553.
- Troell, M., C. Halling, A. Neori, A.H. Buschmann, T. Chopin, C. Yarish, N. Kautsky. 2003. Integrated mariculture: asking the right questions. *Aquaculture* 226: 69-90.
- Tsutsui, I., P. Kanjanavorakul, P. Srisapomee, D. Aue-umneoy, K. Hamano. 2010. Growth of giant tiger prawn, *Penaeus monodon* Fabricius, under co-culture with a discarded filamentous seaweed, *Chaetomorpha ligustica* (Kützling) Kützling, at an aquarium-scale. *Aquaculture International* 18, 545-553.

Acknowledgements Study supported by the Ministério da Ciência e Tecnologia (CT-HIDRO), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Conference participation supported by the European Economic Area Financial Mechanism (EEA Grants) and the Higher Institute of Agronomy Students Union.

Associação dos Estudantes do Instituto Superior de Agronomia Tapada da Ajuda - Lisboa
CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

